

**Annalen  
van  
de Belgische Vereniging  
voor  
Stralingsbescherming**

---

VOL. 7, N° 3 - 4

1982

Driemaandelijks  
Periodiek

Périodique  
trimestriel

---

**Annales  
de  
l'Association Belge  
de  
Radioprotection**

Hoofdredacteur

Dr M.H. FAES  
S.C.K/C.E.N.  
2400 Mol

Rédacteur en chef

Redactiesecretariaat

Mme Cl. STIEVENART  
14 rue Juliette Wytsmannstraat  
1050 Bruxelles - Brussel

Secrétaire de Rédaction

Publikatie van teksten in de Annalen  
gebeurt onder volledige verantwoorde-  
lijkheid van de auteurs.

Les textes publiés dans les Annales  
le sont sous l'entière responsabilité  
des auteurs.

## INHOUD

## SOMMAIRE

Uiteenzettingen gehouden op de  
Internationale Vergadering voor  
RADIOECOLOGIE  
te Wageningen van 28 tot 30 juni 1982.  
Deze teksten worden gepubliceerd in  
samenwerking met de Belgische Vereni-  
ging voor Stralingsbescherming.

Exposés présentés lors des  
Assises Internationales de  
RADIOECOLOGIE  
à Wageningen du 28 au 30 juin 1982.  
Les textes sont publiés avec la colla-  
boration de l'Association Belge de  
Radioprotection.

## ZITTING I - SESSION I

Voorzitter J. GARLAND Président  
Wetenschappelijke Sekretaris J. VAN den HOEK Secrétaire scientifique

- D. PAPAPOULOS, L.A. KONIG, K.G. LANGGUTH :  
Tritium contamination of rain water due to tritium  
release to the atmosphere. 129 - 146
- R. KIRCHMANN, J.C. DUPONT, P. FONTAINE-DELCAMBE :  
Evaluation de l'influence des tours de réfrigération  
sur le transfert à l'environnement terrestre du tritium  
d'un cours d'eau récepteur. 147 - 166
- C. BUNNENGER, W. KUHN, Y. UJENO :  
Vapor exchange between atmosphere and soil with respect  
to the transfer of tritium. 167 - 182
- Y. BELOT, J. DELFORGE :  
Modélisation du transfert de HTO entre l'atmosphère et le  
sol. Application au transfert de la vapeur d'eau tritiée. 183 - 198
- L.A. KONIG, K.G. LANGGUTH, D. PAPAPOULOS :  
Transfer of tritium discharged with the liquid effluent in  
the environment of the Karlsruhe Nuclear Research Center. 199 - 212
- S. STRACK :  
Behaviour of tritium in the water pool and organic pool of  
the leaves of a beech tree. First results of a long term  
investigation. 213 - 228
- R. KIRCHMANN, E. FAGNIART :  
Bilan de recherches expérimentales sur le transfert de l'eau  
tritiée aux végétaux cultivés. 229 - 246
- H. CAMUS, J. DELMAS, R. KIRCHMANN :  
Influence du climat sur la sorption et la désorption d'eau  
tritiée par des végétaux irrigués. 247 - 258
- L. FOULQUIER, M. PALLY :  
Données sur la teneur en tritium lié de poissons des  
grands fleuves français. 259 - 282
- S. BONOTTO, G.B. GERBER, G. ARAPIS, R. KIRCHMANN :  
Modelization of tritium transfer into the organic compart-  
ments of algae. 283 - 292

## ZITTING II - SESSION II

Voorzitter S.L. COMMERFORD Président  
 Wetenschappelijke Sekretaris M. FRISSEL Secrétaire scientifique

- J. GUENOT, C. CAPUT, Y. BELOT :  
 Rôle des réactions de photosynthèse et d'échange  
 dans l'incorporation du tritium dans la matière  
 organique des végétaux. 293 - 306
- S.L. COMMERFORD :  
 The relative amount of organic and inorganic tritium  
 present in the tissues of animals exposed to tritium  
 through their drinking water or through their diet. 307 - 316
- J. VAN den HOEK, G. GERBER, R. KIRCHMANN :  
 Tritium metabolism in cow's milk after administration of  
 tritiated water and of organically bound tritium. 317 - 330
- M. ROCHALSKA, J. VAN den HOEK, R. KIRCHMANN, G.B. GERBER  
 R. VAN BRUWAENE :  
 Incorporation of tritium in milk lipids after feeding orga-  
 nically bound tritium to cows. 331 - 338
- E. NURNBERGER, E. CLAUSEN, G. KISTNER :  
 Investigation on the distribution of tritium and carbon-14  
 in the amino acids of labeled green algae (*scenedesmus*  
*quadricauda* ssp.). 339 - 344
- M. ROCHALSKA, R. VAN BRUWAENE, G.B. GERBER, R. KIRCHMANN :  
 Organically bound tritium and its distribution in mice  
 fed organically labeled milk powder. 345 - 352
- R. VAN BRUWAENE, G.B. GERBER, R. KIRCHMANN, J. MAES,  
 E. FAGNIART :  
 Incorporation and metabolism of tritium in pregnant mice and  
 their offspring after feeding organically labeled tritiated  
 milk powder during pregnancy. 353 - 362
- M. ROCHALSKA, R. VAN BRUWAENE, G.B. GERBER, R. KIRCHMANN :  
 Organic tritium in brain of new-born pigs from mothers who  
 had received tritium water during pregnancy. 363 - 374

Annales de l'Association Belge de Radioprotection, vol. 7, n° 3-4 (1982).

TRITIUM CONTAMINATION OF RAIN WATER DUE TO TRITIUM RELEASE TO  
THE ATMOSPHERE

Papadopoulos, D.; König, L.A.; Langguth, K.-G.

Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH  
Hauptabteilung Sicherheit/Radioökologie

Abstract

From the data on emissions the surface loading with HTO can be calculated, taking into account the meteorological conditions. The comparison of the measured with the calculated values allows to verify the usefulness of the model of calculation. It is reported about the results of such investigations, including above all the determination of the washout coefficient.

1. Introduction

This paper is a report about the results of a program of measurements conducted at the Karlsruhe Nuclear Research Center in 1981. The measurements were carried out to compare calculated with measured tritium concentrations in rain water in order to obtain some information about the accuracy of the calculation model applied and the parameters used.

In the period between 1971 and 1980, approx. 15,200 Ci of tritium were released into the atmosphere with the gaseous effluents of the Karlsruhe Nuclear Research Center (KfK) [1]. Table 1 is a list of the annual discharges of tritium emitters of the Karlsruhe Nuclear Research Center. As the table shows, the heavy water moderated reactor, MZFR, (200 MW<sub>th</sub>) contributed 63 % to the tritium discharges in the period considered. The contribution of the other heavy water moderated research reactor,

Emitters	Height of release in m	1971	1972	1973	1974	1975	1976	1977	1978	1979	1980	total
WAK/LAVA	60	-	-	-	-	-	-	190	126	167	80	563
KTB/FR2	99	634	603	483	320	285	170	192	144	157	169	3157
KBG/MZFR	99,5	1130	542	1091	1100	766	703	1020	1037	991	1177	9557
HDB/FERAB	70	-	-	-	-	-	213	330	883	167	192	1785
HDB/Bau 545	19	-	-	-	-	-	73	35	21	-	-	129
HDB/Bau 548	15	-	-	-	-	-	13	-	-	-	-	13
S u m		1764	1145	1574	1420	1051	1172	1767	2211	1482	1618	15204

Table 1: Tritium Emissions from the Karlsruhe Nuclear Research Center in the Gaseous Effluent in the Period 1971 to 1980, in Ci.

FR2, (44 MW<sub>th</sub>) amounted to almost 21 %, and that of FERAB, an incineration plant for radioactive waste, totaled almost 12 %. Consequently, more than 95 % of the bulk tritium discharges of KfK stem from the three facilities listed above.

Rain water was sampled at locations 1 to 12 between June 16 and June 22, June 22 and July 1, and July 1 and July 6, 1981. At point A the rain water was collected after every rainfall (see Fig. 1) throughout the whole of 1981. For evaluation of the measured results, precise knowledge of the emissions from the MZFR and of the meteorological data prevailing during the program of measurements is required. The daily levels of tritium emissions from the MZFR for the period between June 1 and July 15, 1981 are listed in Table 2. The meteorological data were determined on the meteorological tower 200 m high and input into the ISOLA-III computer programm [2].

Day	<sup>3</sup> H-emission Ci/d	Day	<sup>3</sup> H-emission Ci/d	Day	<sup>3</sup> H-emission Ci/d
01.06.	2.72	16.06.	2.72	01.07.	10.81
02.06.	2.23	17.06.	3.35	02.07.	3.58
03.06.	3.22	18.06.	3.54	03.07.	3.07
04.06.	2.45	19.06.	2.52	04.07.	2.77
05.06.	2.14	20.06.	2.45	05.07.	2.38
06.06.	1.62	21.06.	3.29	06.07.	2.95
07.06.	1.75	22.06.	4.04	07.07.	5.05
08.06.	1.40	23.06.	2.97	08.07.	4.31
09.06.	2.87	24.06.	3.83	09.07.	3.90
10.06.	5.36	25.06.	5.03	10.07.	3.48
11.06.	2.00	26.06.	3.79	11.07.	3.13
12.06.	2.85	27.06.	3.11	12.07.	2.74
13.06.	2.30	28.06.	3.01	13.07.	3.96
14.06.	1.92	29.06.	3.21	14.07.	3.96
15.06.	4.08	30.06.	3.35	15.07.	3.13

Table 2: Tritium Discharges with the Stack Exhaust Air of the MZFR between June 1 and July 15, 1981 (Reactor in Operation)

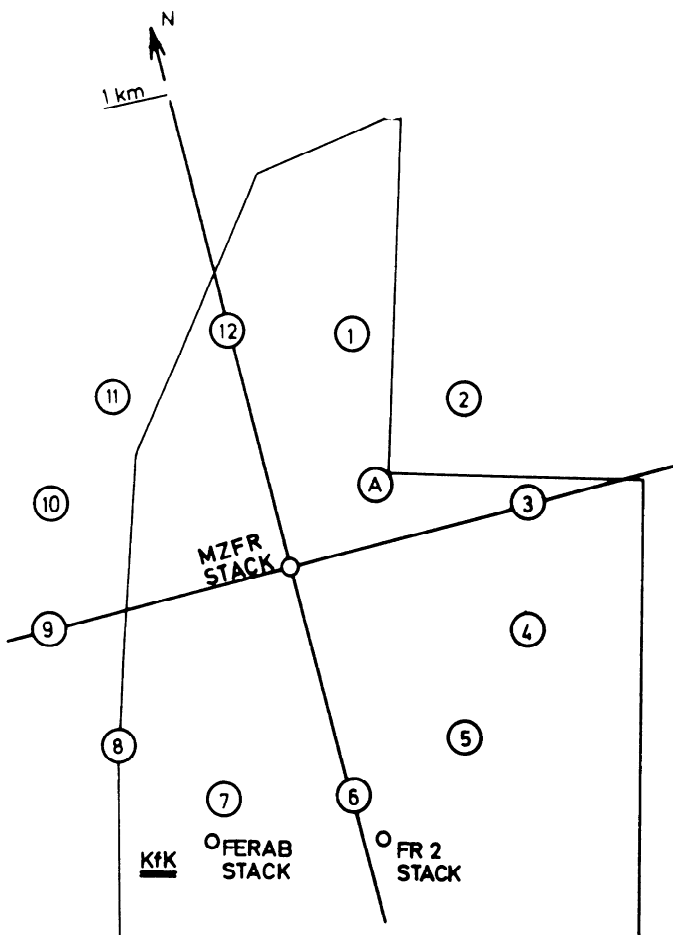


Fig. 1: Sampling Locations



## 2. Selection of Sampling Locations

Because of its high contribution to the tritium emissions, the MZFR plant was selected as an emitter for the program. The ISOLA-III computer program and the four-parameter meteorological statistics of many years [3] for the KfK site were used to determine for the MZFR the isolines of equal  $^3\text{H}$ -concentrations in the rain water resulting from discharges from the MZFR (see Fig. 2). The results show that the maximum  $^3\text{H}$ -concentration in

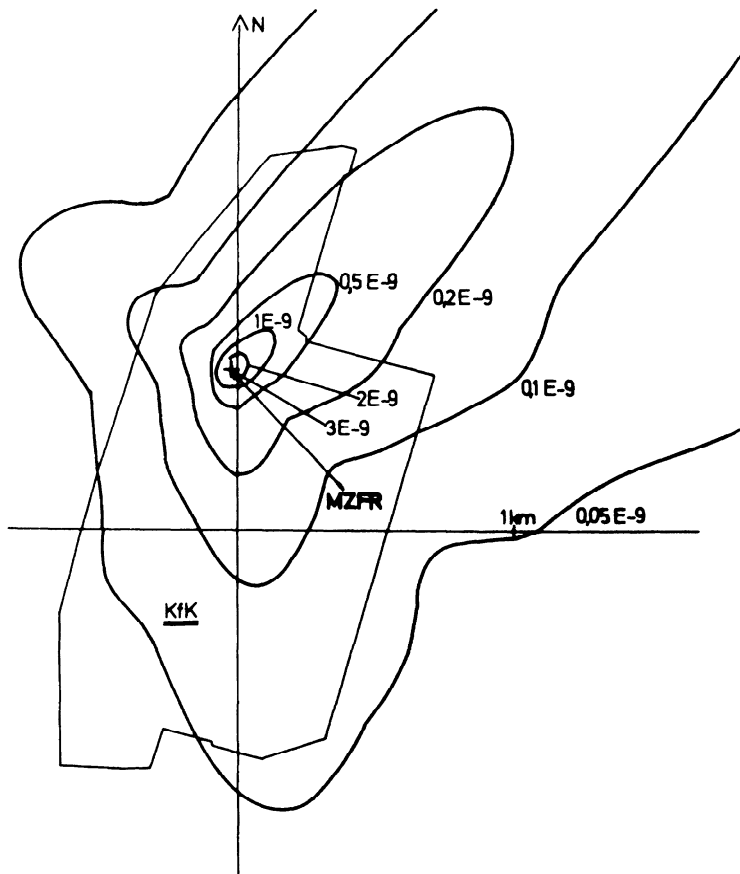


Fig. 2: Norm Lines of Rainout ( $\text{m}^{-2}$ ), ISOLA-III Code Output with Stack Height 100 m

rain water is within a circle with a radius of about 500 m around the MZFR exhaust stack and that, on the periphery of this circle the FR2, FERAB and WAK emitters contribute only little to this concentration. For this reason, sampling stations 1 to 12 were selected in an even distribution around the periphery of this circle (see Fig. 1). The main diffusion sector with the maximum burden was determined on the basis of Fig. 2. This sector contains the additional point of impact, A, of continuous rain water sampling about 250 m from the MZFR exhaust stack (see Fig. 1).

### 3. Sampling

The precipitation samples at measuring stations 1 to 12 were collected in plastic bottles by means of a funnel 15.7 cm in diameter on the upper rim. Continuous sampling at measuring station A was performed by means of a Hellmann collector of 16.0 cm diameter.

### 4. Sample Conditioning and Tritium Concentration Assays

To avoid tritium assays being upset by other nuclides and ensure the most uniform quality of the substance measured, all rain water samples were distilled. As a consequence of this distillation, the variation in quenching remained so low as to allow the quenching correction curve to be considered as linear in the range required, which simplified the computation of the sample activity by means of a small computer. To prevent any memory effect from being generated in the distillation system, that system was vacuum dried before each new loading.

For sample preparation, 10 ml of the measured substance were homogeneously mixed with 12 ml of scintillator cocktail in a polyethylene plastic bottle. To avoid spurious luminescence phenomena (e. g., chemoluminescence or photoluminescence), samples were prepared under green light in a darkroom and then kept at approx. 70 °C for two hours. To avoid thermoluminescence effects and not upset the constancy of temperatur of approx.

10 °C in the liquid scintillation spectrometer, the temperature of the samples was lowered to the measuring temperature in a refrigerator before being moved into the measuring system.

The tritium concentration was measured by means of liquid scintillation counting. The commercial "Insta-Gel" three-component scintillator cocktail was used. The measuring time was 100 minutes throughout for all samples. The limits of detection and the measuring error were calculated in accordance with the formulae indicated in an earlier paper [4].

## 5. Measured Results and Discussion

As mentioned above, rain water was collected at measuring stations 1 to 12 after three rainy periods between June 16 and July 6, 1981 and assayed for its <sup>3</sup>H-concentration. The results of these rain water sample assays are summarized in Table 3. At measuring station A, rain water was collected after every rainy period throughout all of 1981 and also assayed for its <sup>3</sup>H-concentration; these results are listed in Table 4.

### 5.1 Assays of Rain Water from Measuring Stations 1 to 12

The tritium burdens per unit area at the sampling points which can be calculated from the measured tritium concentration, the collected volume of rain water and the diameter of the rain water collecting device, are shown in Table 3.

For the Turmberg/Augustenberg reference point (approx. 10 km southeast of the MZFR plant), the following tritium concentrations were found in the precipitation:

between June 15 and June 30, 1981:      0.25±0.17 nCi/l  
 between June 30 and July 15, 1981:      0.17±0.17 nCi/l.

This tritium concentration is not influenced by emissions from the Karlsruhe Nuclear Research Center, but is rather due to nuclear weapon tests and, for this reason, must be subtracted

Collection period			June 16 - June 22, 1981			June 22 - July 1, 1981			July 1 - July 6, 1981		
Sampling Station			V ml	C <sub>w</sub> pCi/ml	B <sub>F</sub> <sup>M</sup> nCi/m <sup>2</sup>	V ml	C <sub>w</sub> pCi/ml	B <sub>F</sub> <sup>M</sup> nCi/m <sup>2</sup>	V ml	C <sub>w</sub> pCi/ml	B <sub>F</sub> <sup>M</sup> nCi/m <sup>2</sup>
No.	R m	φ Grad									
1	515	30	-	-	-	256	0.57±0.18	7.54±2.38	265	0.62±0.18	8.49±2.47
2	500	60	77	0.51±0.17	2.03±0.68	255	0.63±0.19	8.31±2.75	266	1.13±0.20	15.54±2.75
3	500	90	82	0.62±0.18	2.63±0.76	250	0.37±0.18	4.78±2.33	244	0.56±0.18	7.06±2.27
4	505	120	64	0.57±0.18	1.89±0.60	240	0.36±0.17	4.47±2.11	241	0.36±0.18	4.49±2.24
5	480	150	65	1.07±0.19	3.60±0.64	251	0.36±0.17	4.67±2.11	242	0.58±0.18	7.26±2.25
6	560	180	-	0.54±0.17	-	249	0.36±0.17	4.63±2.19	256	0.22±0.17	2.91±2.45
7	500	210	65	0.65±0.18	2.18±0.60	254	0.36±0.17	4.73±2.23	221	0.28±0.17	3.20±1.94
8	495	240	59	0.27±0.16	0.82±0.49	252	0.34±0.17	4.23±2.12	226	0.24±0.17	2.80±1.99
9	485	270	-	-	-	266	0.33±0.17	4.54±2.34	263	0.18±0.17	2.45±2.45
10	500	300	-	-	-	266	0.33±0.16	4.54±2.20	261	0.21±0.17	2.83±2.30
11	450	330	-	-	-	257	0.25±0.16	3.32±2.13	253	0.16±0.17	2.18±2.18
12	540	360	77	0.15±0.15	0.60±0.60	257	0.27±0.16	3.55±2.10	-	0.22±0.17	-

Table 3: Measured Tritium Concentrations and Burdens Per Unit Area

(R, φ) - polar coordinates of points of impact 1-12

V - water volume collected

C<sub>w</sub> - measured <sup>3</sup>H-concentration in rain water

B<sub>F</sub><sup>M</sup> - soil burden caused by the rain water

Sampling date	Tritium activity concentration nCi/l		Rain intensity in mm		Sampling date	Tritium activity concentration nCi/l		Rain intensity in mm	
	Measured	Calculated	At point A	At met. meadow		Measured	Calculated	At point A	At met. meadow
05.01.81	0.35	0.22	19.00	22.34	19.06.81	1.07	3.29	1.70	2.02
13.01.81	0.60	0.53	2.20	2.96	23.06.81	0.33	0.00	4.90	4.58
15.01.81	0.77	0.36	10.00	12.14	03.07.81	0.43	0.62	3.40	4.36
04.02.81	0.64	0.30	20.90	24.39	06.07.81	2.29	3.42	8.50	8.94
23.02.81	0.57	0.02	1.00	1.17	13.07.81	0.58	2.37	0.90	1.01
13.03.81	1.67	2.79	9.40	12.00	14.07.81	0.63	0.61	1.50	1.47
16.03.81	0.50	0.66	4.60	4.89	21.07.81	0.30	0.22	2.50	2.77
17.03.81	2.90	2.65	2.30	2.58	23.07.81	0.62	2.10	16.00	14.98
23.03.81	0.85	1.32	5.70	5.20	27.07.81	0.37	1.18	5.40	5.90
24.03.81	0.28	0.80	4.20	4.40	03.08.81	0.46	1.61	2.10	2.23
25.03.81	0.89	3.32	2.30	2.87	11.08.81	0.59	2.00	5.60	5.76
26.03.81	0.65	0.68	3.60	4.12	12.08.81	0.68	1.85	0.60	0.55
27.03.81	0.86	0.55	0.70	0.74	21.08.81	3.11	4.14	2.40	2.88
13.04.81	0.38	0.05	0.70	0.74	24.08.81	1.17	1.59	11.00	9.45
28.04.81	6.43	6.85	21.80	20.51	01.09.81	0.24	0.00	6.40	7.83
29.04.81	2.07	1.40	3.00	3.39	14.09.81	0.50	0.11	0.50	0.42
04.05.81	4.29	7.57	13.00	14.35	29.09.81	0.17	0.80	9.70	8.43
13.05.81	0.71	5.60	1.30	1.46	06.10.81	0.41	0.35	5.40	4.95
14.05.81	0.40	2.34	8.40	7.58	07.10.81	0.35	1.72	2.80	2.50
26.05.81	1.20	2.41	8.20	8.87	16.10.81	2.30	3.79	45.00	49.31
27.05.81	3.13	6.20	12.30	13.21	19.10.81	2.92	6.57	9.10	8.61
03.06.81	0.68	0.15	2.30	2.63	22.10.81	4.35	12.94	2.00	1.84
04.06.81	0.24	0.01	29.50	33.37	26.10.81	0.57	0.67	4.00	4.95
05.06.81	1.90	1.76	6.00	5.68	28.10.81	1.82	0.84	1.30	1.54
09.06.81	1.03	0.79	6.10	7.42	29.10.81	7.75	12.17	1.50	1.29
10.06.81	0.62	1.24	2.20	2.03	30.10.81	7.93	13.78	4.80	5.72
16.06.81	0.29	0.23	7.80	6.90	30.11.81	3.04	3.46	13.40	13.17

Tab. 4: Measured Tritium Activity Concentration at Position A and its Calculation by Means of  $s = 3E-9$  a/(mm s) and Rain Intensity at Position A and at the Meteorological Meadow

from the levels measured at the Karlsruhe Nuclear Research Center, the respective precipitation volumes being taken into account. These were the background levels subtracted:

0.90 nCi/m<sup>2</sup> for the collection period June 16 to June 22, 1981,  
 3.28 nCi/m<sup>2</sup> for the collection period June 22 to July 1, 1981,  
 2.19 nCi/m<sup>2</sup> for the collection period July 1 to July 6, 1981.

The levels obtained after this background correction are compiled in Table 5 and compared with the data obtained in accordance with the "General Bases for Calculating Radiation Exposures from Radioactive Discharges with the Effluent Air or in Surface Waters (Guidelines on Section 45, Radiation Protection Ordinance)" [5] (Column 1). This calculation was performed in accordance with the equation

$$B_{F,i}^{th} = A \frac{N}{2\pi x} \sum_{jmt} q_{ijmt} \frac{\Lambda_t}{u_{jm}} \quad (1)$$

(corresponding to Eq. (4.12) in the General Bases of Calculation).

In Eq. (1), the symbols used have the following significance:

- $B_{F,i}^{th}$  = BURDEN PER UNIT AREA (Ci m<sup>-2</sup>)  
 $A$  = ACTIVITY EMITTED (Ci)  
 $N$  = NUMBER OF SECTORS OF WIND DIRECTIONS  
 $x$  = DISTANCE FROM EMITTER (m)  
 $q_{ijmt}$  = FREQUENCIES OF PRECIPITATIONS  
 (i: SECTOR OF WIND DIRECTION; j: DIFFUSION  
 CATEGORY; m: WIND VELOCITY LEVEL;  
 t: PRECIPITATION INTENSITY LEVEL)  
 $u_{jm}$  = AVERAGE OF WIND VELOCITY LEVEL (m s<sup>-1</sup>)  
 $\Lambda_t$  = WASHOUT CONSTANT (s<sup>-1</sup>)

Measuring station	July 1 - July 6, 1981			June 22 - July 1, 1981			June 16 - June 22, 1981		
	$B_F^M$	$B_F^{th}$		$B_F^M$	$B_F^{th}$		$B_F^M$	$B_F^{th}$	
		(1)	(2)		(1)	(2)		(1)	(2)
1	-	2.31	0.78	4.26	39.80	13.27	6.30	22.03	7.34
2	1.13	3.64	1.21	5.03	11.76	3.91	13.35	35.63	11.88
3	1.73	7.47	2.49	1.50	16.77	5.60	4.87	3.53	1.18
4	0.99	3.25	1.08	1.19	1.30	0.43	2.30	0.06	0.01
5	2.70	7.38	2.46	1.39	1.20	0.40	5.07	0.21	0.07
6	-	1.12	0.37	1.35	9.78	3.27	0.72	2.71	0.91
7	1.28	0.08	0.03	1.45	12.69	4.23	1.01	0.21	0.07
8	0	0	0	0.95	1.15	0.39	0.61	0	0
9	-	0	0	1.26	1.81	0.60	0.26	0.11	0.04
10	-	0	0	1.26	0.24	0.09	0.64	1.30	0.43
11	-	0	0	0.04	0.97	0.32	0	0.14	0.04
12	0	0.17	0.06	0.27	9.02	3.01	-	2.05	0.68

Table 5: Comparison between Measured ( $B_F^M$ ) and Calculated Burdens per Unit Area, ( $B_F^{th}$ ), in  $nCi\ m^{-2}$

(1) calculated with  $s = 3 \times 10^{-9}\ a\ mm^{-1}\ s^{-1}$ ,

(2) calculated with  $s = 1 \times 10^{-9}\ a\ mm^{-1}\ s^{-1}$ .

Under the condition of the washout constant,  $\Lambda$ , being directly proportional to the precipitation intensity,  $\vartheta$ , [6] it holds that

$$\Lambda = s \vartheta \quad (2)$$

with

$$\begin{aligned} s &= \text{proportionality constant} && (\text{a mm}^{-1}\text{s}^{-1}) \\ \vartheta &= \text{precipitation intensity} && (\text{mm a}^{-1}) \end{aligned}$$

Except for  $s$ , all quantities needed to calculate  $B_{F,i}^{\text{th}}$  are known from measurements conducted at the exhaust stack of the emitter (see Table 2) and from measurements, respectively, conducted at the meteorological tower.

For calculating soil contamination as a result of washout in the ISOLA-III program,  $s = 3 \times 10^{-9} \text{ a mm}^{-1}\text{s}^{-1}$  was substituted.

This value was recommended in the Bases for Calculating Aerosols [5]. In [6],  $s = 3.4 \times 10^{-8} \text{ a mm}^{-1}\text{s}^{-1}$  is indicated for HTO. If the measured  $B_F^M$  values are compared with the calculated  $B_F^{\text{th}}$  values for the main sectors of diffusion (measuring stations 1, 2, 3, 4, 11 and 12), at most measuring locations in the main wind diffusion sectors the calculated values (brackets (1) in Table 5) are higher than the measured ones. A balancing calculation using the least squares method allows a correction factor to be determined for  $s$  so as to achieve better agreement with the measured values. The results from the other sectors (measuring stations 5 to 10), which had not been used for this evaluation, are either influenced more strongly by discharges from the FERAB incineration plant (measuring stations 5, 6 and 7), or the measured and the calculated values are so low that the measured values have only little validity because of the large measuring error they entail.



After the correcting calculation it is seen that the value of

$$s \approx 1 \times 10^{-9} \text{ a mm}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

would describe the situation much more appropriately for HTO. Values of the burden per unit area,  $B_F$ , calculated with this value for the proportionality constant are also listed in Table 5 (columns (2)).

## 5.2 Continuous Sampling from Measuring Station A

Around 10 a. m. on every workday, after every rainfall, the precipitation intensity was measured at the measuring station A and subsequently the  $^3\text{H}$ -concentration was determined by the method of measurement described above. For comparison between the measurements and the calculations the following data are available:

- the daily emission of the MZFR between 10 a. m. and 10 a. m. in Ci/d,
- the daily meteorological statistics complete with the precipitation intensity as measured on the meteorological tower of KfK, which is 200 m high, and on the meteorological meadow (approx. 1300 m southwest of the MZFR, some 1600 m southwest of measuring station A).

In 1981, water was collected from a total of 105 rainy periods and assayed for  $^3\text{H}$ . For each rainy period, the  $^3\text{H}$ -activity concentration in rain water at position A was calculated by means of the ISOLA-III program with  $s = 3 \times 10^{-9} \text{ a mm}^{-1} \text{ s}^{-1}$ . Among the 105 pairs of data of the measured and calculated results of the  $^3\text{H}$ -activity concentration, the following ones were rejected:

- pairs of values were not taken into account, if there had been a computer breakdown at the meteorological station (six pairs of values);
- pairs of values were not taken into account, if the reading did not differ greatly from the limit of detection (approx. 0.20 nCi/l) and the calculated value also was low (eight pairs of values);
- pairs of values were also not taken into account, if the precipitation measured on the meteorological meadow differed greatly from that measured at measuring station A (21 pairs of values);
- pairs of values were not taken into account, if the  $^3\text{H}$ -emission of the MZFR was highly discontinuous from day to day (16 pairs of values).

After this selection, 54 remain out of the 105 pairs of values, which have been plotted in Table 4. If one compares the measured values with the calculated ones, again the calculated values were higher in most pairs of values than the measured ones. A correction calculation by the least squares method allows a correction factor to be determined for  $s$  so as to achieve better agreement with the measured values. After this correcting calculation it is seen that the value of

$$s \approx 2 \times 10^{-9} \text{ a mm}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

would describe the situation much more appropriately for HTO.

## 6. Conclusions

The results of our comparison between measured and calculated  $^3\text{H}$ -concentrations in rain water are these:

- The computer model (Eq. 1) used in ISOLA-III and the setup (2) are satisfactory;
- for the proportionality constant,  $s$ , a value between  $1 \times 10^{-9}$  and  $2 \times 10^{-9} \text{ a mm}^{-1} \text{ s}^{-1}$  was found, which is a factor of 2 smaller than assumed in [5] for aerosols and a factor of 23 smaller than assumed in [6] for HTO.

## 7. References

- [1] Annual Reports by the Central Safety Department of the Karlsruhe Nuclear Research Center (edited by Kiefer, H., Koelzer, W., König, L.A.)
  - 1971: KfK-1565 (1972)
  - 1972: KfK-1818 (1973)
  - 1973: KfK-1973 (1974)
  - 1974: KfK-2155 (1975)
  - 1975: KfK-2266 (1976)
  - 1976: KfK-2433 (1977)
  - 1977: KfK-2620 (1978)
  - 1978: KfK-2775 (1979)
  - 1979: KfK-2939 (1980)
  - 1980: KfK-3113 (1981)
  - 1981: KfK-3272 (1982)
- [2] Hübschmann, W., Nagel, D.,  
 "Isola-III - Ein FORTRAN-IV-Programm zur Berechnung der langfristigen Dosisverteilung in der Umgebung kerntechnischer Anlagen",  
 KfK-2698 (1978)
- [3] Vogt, S.,  
 "Vierparametrische Ausbreitungsstatistik als Berechnungsgrundlage der langzeitigen Schadstoffbelastung in der Umgebung eines Emittenten",  
 KfK-2990 (1980)
- [4] König, L.A., Winter, M., Schüler, H.,  
 "Tritium in Niederschlägen, Oberflächen-, Grund- und Trinkwasser - Ergebnisse eines Meßprogrammes mit Schwerpunkt im Raum Nordbaden in den Jahren 1971 bis 1974",  
 KfK-2386 (1976)

- [5] Der Bundesminister des Innern,  
"Allgemeine Berechnungsgrundlage für die Strahlenexposition bei radioaktiven Ableitungen mit der Abluft oder in Oberflächengewässer",  
BMBI. No. 21, (1979), p. 369-436
- [6] Brenk, H.D., Vogt, K.J.,  
"Konzeption für eine praxisnahe Berechnung der Ablagerung radioaktiver Stoffe aus der Abluft kerntechnischer Anlagen durch Niederschlag",  
Jül-1328 (1976)

This work is sponsored by the Federal Ministry of the Interior (St.Sch. 802).

RESUME.

La charge en THO de la surface peut être calculée à partir des données d'émission, en tenant compte des conditions météorologiques. La comparaison des valeurs mesurées et des valeurs calculées permet de vérifier l'utilité du modèle.

Ce sont des résultats de ces travaux qui sont décrits, notamment la détermination du coefficient de washout.

SAMENVATTING.

De THO belasting aan de oppervlakte kan berekend worden uitgaande van de emissie gegevens rekening houdend met de meteorologische gegevens.

De vergelijking tussen de gemeten en de berekende waarden laten toe de geschiktheid van het model te testen.

De resultaten van deze studie worden beschreven, onder meer de bepaling van het washout coëfficiënt.

ZUSAMMENFASSUNG.

Aus den Emissionsdaten läßt sich unter Berücksichtigung der meteorologischen Bedingungen die Flächenbelastung mit HTO berechnen. Der Vergleich der gemessenen mit den berechneten Werten ermöglicht eine Überprüfung der Brauchbarkeit des Rechenmodells.

Es wird über die Ergebnisse solcher Untersuchungen und insbesondere auch über die Bestimmung des Washoutkoeffizienten berichtet.

Annales de l'Association Belge de Radioprotection, vol. 7, n° 3-4 (1982).

EVALUATION DE L'INFLUENCE DES TOURS DE REFRIGERATION SUR LE TRANSFERT A L'ENVIRONNEMENT TERRESTRE DU TRITIUM D'UN COURS D'EAU RECEPTEUR.

KIRCHMANN, R., DUPONT, J.C.\*, FONTAINE\*\* - DELCAMBE, P.

Département de Radiobiologie, CEN/SCK, Mol.

\*\*Laboratoire de Radioécologie, Service de Botanique Générale,  
Université de Liège, Sart Tilman. (Belgique)

Résumé

Des études sur l'impact des tours de réfrigération à circulation forcée de la Centrale de Tihange-1 ont débuté en 1978.

La première étude a porté sur l'évaluation du transfert dans l'environnement terrestre du tritium rejeté en Meuse, en amont de la Centrale.

Cette étude a comporté, en 1978, quatre campagnes d'exposition de végétaux d'une durée d'un mois chacune dont deux avec tours de réfrigération en fonctionnement et deux avec tours à l'arrêt. En 1979, trois campagnes ont été réalisées dont une avec les tours en fonctionnement.

Les résultats de mesure des teneurs en tritium de l'eau de Meuse, de pluie, de la vapeur d'eau atmosphériques ainsi que de l'eau tissulaire (TFWT) des végétaux cultivés dans les 9 stations, ont montré qu'il n'y avait pas d'influence, sauf dans un cas, du fonctionnement des tours sur les teneurs en TFWT des végétaux exposés.

Par ailleurs, la comparaison des rapports des activités spécifiques

OBT végétal ne montre pas de différence significative entre les végé-  
THO pluie

taux ni entre les stations d'exposition et cela que les tours soient en fonctionnement ou pas.

Il convient toutefois de remarquer que ce rapport a une valeur variant de 2,7 à 7,0 révélant une source de <sup>3</sup>H organique disponible pour le végétal, laquelle ne semble pas provenir du substrat de culture.

D'autre part les teneurs en OBT du feuillage d'arbres présents sur le site ainsi que des algues cultivées en étang alimenté par la Meuse sont voisines de celles observées chez les végétaux cultivés dans les stations.

Par contre les teneurs en OBT des algues poussant dans les tours de réfrigération sont nettement plus élevées ( 3 à 9 fois ), ce qui indiquerait la présence dans l'eau de Meuse de molécules organiques tritiées biologiquement disponibles.

## 1. Introduction

Toutes les unités de production d'énergie électrique utilisant la vapeur produite par des combustibles fossiles ou nucléaires, ont en commun un problème important qui est celui de la source froide pour l'évacuation de la chaleur résiduaire. C'est pourquoi ce type de centrales électriques est implanté en bordure de milieux aquatiques pouvant assurer les besoins en eau de réfrigération, qui sont, à titre d'exemple, d'environ  $36 \text{ m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$  pour une tranche PWR de 1000 MWe. Si le débit ou la capacité de réfrigération du milieu aquatique le permet, le système de réfrigération de la centrale électrique fonctionne en circuit ouvert. Lorsque le débit est insuffisant, le refroidissement de l'eau des condenseurs est assuré par des tours de réfrigération à tirage forcé ou naturel avec possibilité de recirculation de l'eau.

La tour de réfrigération n'est pas une panacée car, en fait, elle engendre des effets écologiques de nature différente de ceux résultant du rejet directe de la chaleur résiduaire dans le milieu aquatique .

Certains effets ont été reconnus dès le début ( brouillard par ex.) d'autres ont reçu une attention plus récemment : perte d'eau de rivière par évaporation, purges de déconcentration, entraînement de composés chimiques dans le panache, interaction de ce dernier avec les polluants atmosphériques provenant d'autres sources, dispersion potentielle dans l'air de microorganismes pathogènes pouvant proliférer dans l'eau réchauffée (1).

Nos études sur l'impact des tours de réfrigération de la Centrale de Tihange ont débuté en 1978, les résultats concernant de transfert dans l'environnement terrestre du tritium rejeté en Meuse, en amont de la Centrale, sont présentés et discutés.

## 2. Matériel et méthodes

2.1. L'étude s'est effectuée en deux temps :

- a) durant la période de juin 1978 à juin 1979, on a effectué quatre campagnes d'exposition de végétaux d'une durée d'un mois chacune dont deux avec tours de réfrigération en fonctionnement et deux avec tours à l'arrêt (Campagnes 1,2,3 et 4 )

- b) lors de la deuxième période, de septembre 1979 à décembre 1979, la méthodologie a été modifiée afin d'éliminer l'apport du tritium par le sol normal en remplaçant ce dernier par un mélange de vermiculite/perlite. Trois campagnes ont été réalisées en appliquant cette méthode de culture : deux avec tours à l'arrêt et une autre avec les tours en fonctionnement ( Campagnes 5,6 et 7 ).

## 2.2. Choix et situation des stations d'échantillonnage.

### a) Stations in situ.

3 stations ont été établies sur le site même de la Centrale et donc en bordure de la Meuse ( Fig.1 ).

Une station (n° 2) est située près des réfrigérants se trouvant à droite du canal de rejet. Cette station est susceptible de subir l'influence des réfrigérants lorsque le vent souffle de l'Ouest et du Sud-Ouest.

Une autre station (n° 4) se situe à gauche des 2 blocs de réfrigérants, près de la prise d'eau, en amont de la Centrale.

Enfin, la 3ème station (n° 3) est située à 200 m. de la Meuse près du bâtiment d'accueil de la Centrale.

### b) Stations périphériques.

Cinq autres stations se trouvent à la périphérie du site de la Centrale ( Fig. 2 ).

Numéro des stations	Distance de la station à la Centrale	Localisation
1	500 m	Dans le centre du C.E.R.E.R. en bordure de la Meuse sur sa rive droite à l'Ouest de la Centrale ( cote 70 )
5	3 Km	Sur le terrain de la ferme de la Sarte sur le versant de la rive droite de la Meuse (cote 230) le long de la route Huy-Hamoir. Cette station se situe au Sud de la Centrale.
6	3,5 Km	Sur le terrain de l'Ecole d'horticulture de Huy sur la rive gauche de la Meuse dans l'anse que décrit la Meuse dans la ville de Huy, au Sud-Ouest de la Centrale (cote 70)



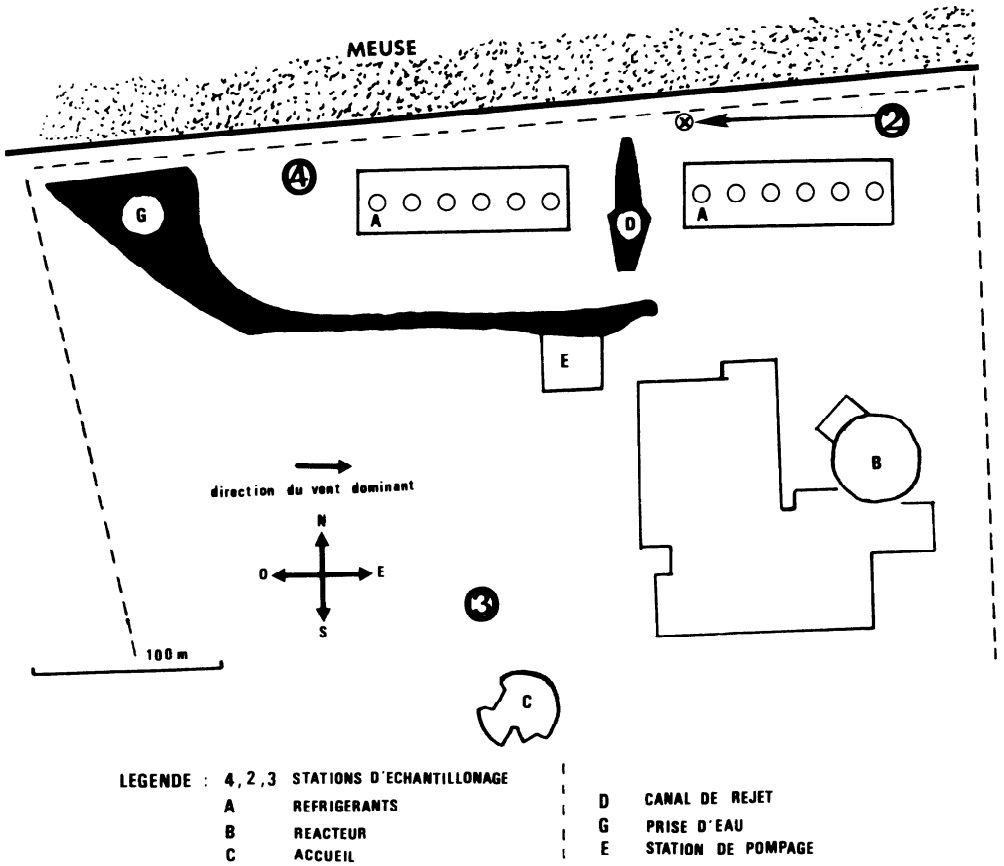


Figure 1.

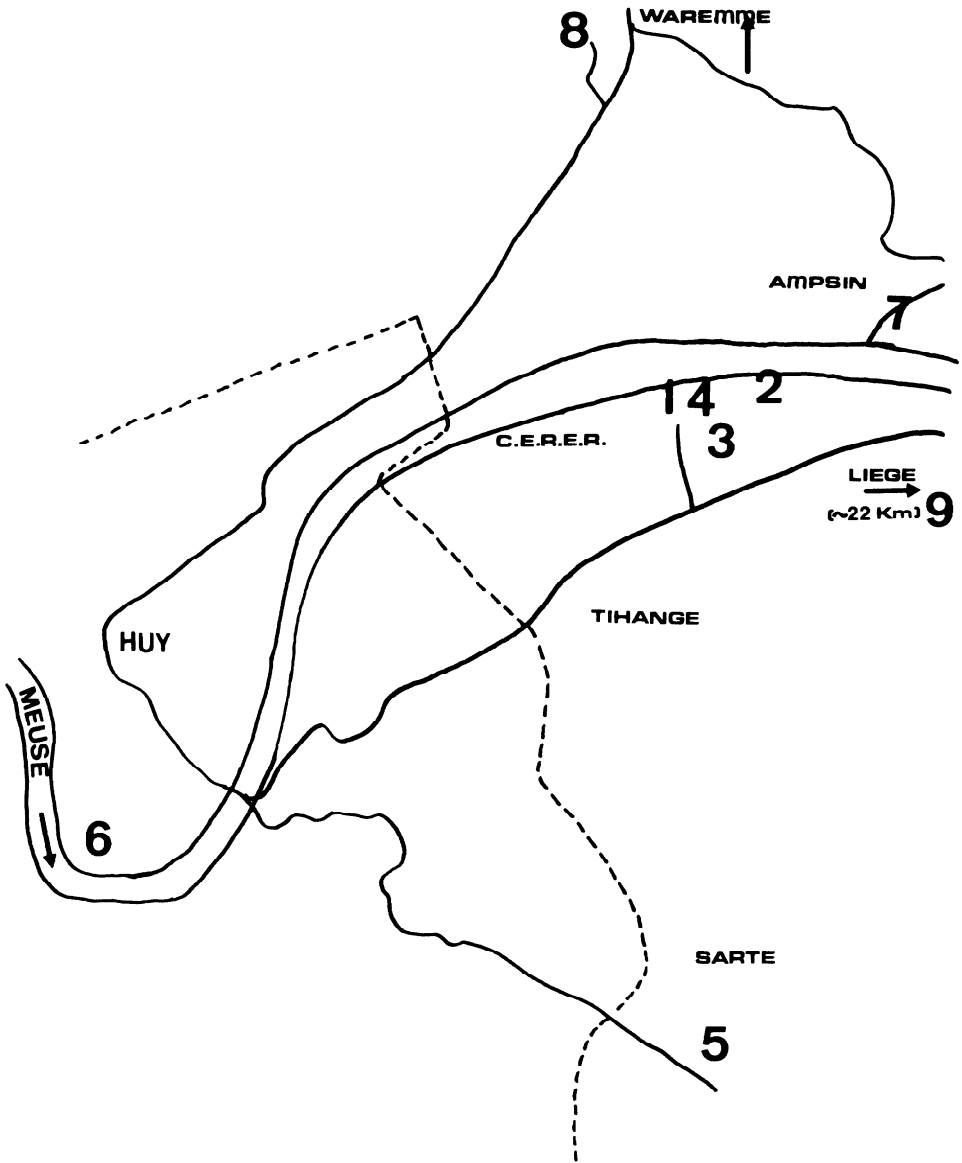


Figure 2.

Emplacement des stations.

Numéro des stations	Distance de la station à la Centrale	Localisation
8	1,25 Km	Dans une prairie d'une ferme située à la cote 185 sur le versant de la rive gauche de la Meuse au Nord-Ouest de la Centrale, sur la route Huy-Waremme.
7	1 Km	Dans un jardin privé (cote 70) le long de la rive gauche de la Meuse, au Nord-Est de la Centrale.

### c) Station de référence

La station témoin (N° 9) qui n'est pas influencée directement par l'évaporation de la Meuse ni par les rejets atmosphériques (cheminée et tours de réfrigération) de la Centrale de Tihange-1 est située à 22 km à l'Est du site de la Centrale, sur le domaine universitaire du Sart-Tilman (cote 180).

L'équipement des stations ainsi que la procédure suivie au cours du déroulement d'une campagne d'exposition ont été décrits antérieurement (2), de même que la récolte et la préparation des échantillons récoltés dans ces stations (végétaux, eaux de pluie, vapeur d'eau atmosphérique).

### 2.3. Analyse : Détermination de la teneur en tritium.

Deux types d'analyse sont faits :

- récolte de l'eau libre des végétaux et des sols par distillation et mesure du  $^3\text{H}$  au scintillateur en phase liquide.
- combustion des végétaux dans un train à combustion sous un courant d' $\text{O}_2$ . L'hydrogène des molécules organiques est libéré et forme de l' $\text{H}_2\text{O}$ . Celle-ci est récupérée dans un piège et la quantité en THO est mesurée au scintillateur en phase liquide.

## 3. Résultats et discussion

### 3.1. Transfert du tritium de l'eau de Meuse à la vapeur d'eau atmosphérique et à l'eau de pluie.

Le dernier jour de l'exposition des végétaux, au moment de la récolte de ceux-ci, nous avons procédé à un captage d'eau atmosphérique par condensation sur les parois d'un cylindre contenant un mélange réfrigérant (acétone/carboglâce). Toutes les mesures des teneurs en tritium de ces eaux

de condensation de la vapeur d'eau atmosphérique ont toujours donné, quel que soit le mode de régime des tours de réfrigération et quelle que soit la station, des valeurs proches de la limite de détection ( $\sim 10$  Bq/l)

Quant aux eaux de pluie recueillies aux 9 stations pendant les 7 campagnes, les valeurs des teneurs en tritium ont oscillé entre 8 et 23 Bq/l, les valeurs généralement observées variant entre 9 et 12 Bq/l.

Dans le tableau I figurent les valeurs du rapport des activités en tritium de l'eau de pluie et de l'eau de Meuse.

L'examen de ce tableau ne fait pas apparaître de différences selon le régime des tours, ni entre les différentes stations au cours d'une même campagne, excepté en ce qui concerne la station 7 lors de la campagne n° 1 (C1).

On peut en déduire que l'évaporation de l'eau de la Meuse par les tours ne se fait pas sentir au niveau de la teneur en tritium des précipitations, à part une exception (station située à environ 1 km sous le vent dominant). La variation du rapport THO eau de pluie/THO eau de Meuse est dûe aux fluctuations des teneurs en  $^3\text{H}$  de l'eau de Meuse plutôt qu'aux variations des teneurs de la pluie.

### 3.2. Teneurs en tritium des végétaux des stations

#### a) Tritium dans l'eau tissulaire (TFWT)

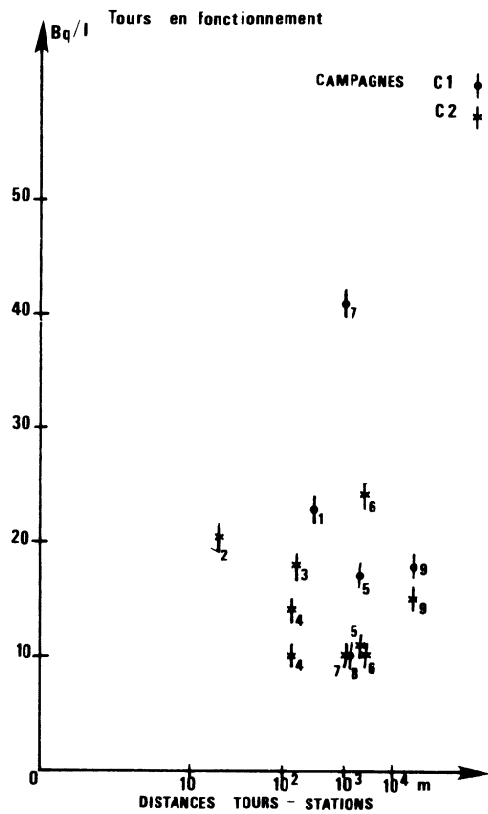
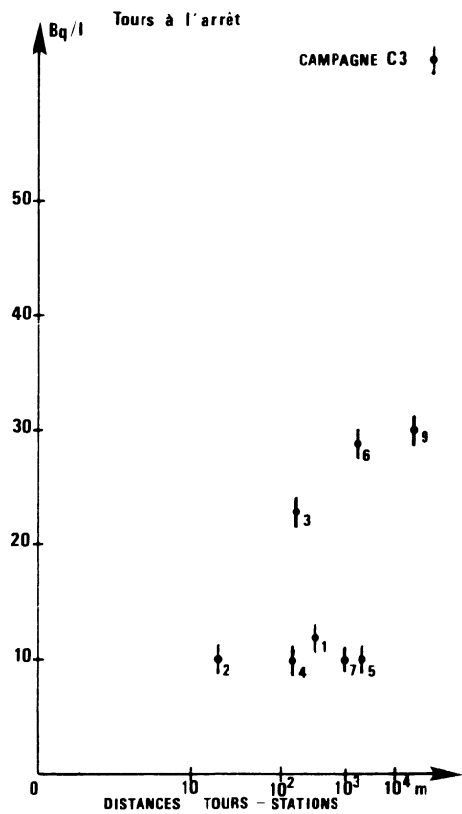
Les teneurs en tritium dans l'eau tissulaire du trèfle exposé dans les 7 stations au cours des campagnes, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> et C<sub>3</sub> sont indiquées dans le graphique 1.

L'examen de ce graphique montre que les valeurs relevées ne sont pas significativement différentes selon le régime des tours de réfrigération, excepté dans le cas de la station 7 où une valeur double environ de la moyenne a été observée lors de la campagne 1 (C<sub>1</sub>). Cette constatation corrobore la valeur plus élevée observée à cette station dans l'eau de pluie (voir tableau I) durant cette campagne d'exposition. A noter d'autre part que la fréquence du vent soufflant dans la direction de la station 7 a été de 20% durant la campagne 1 et que la vitesse du vent était inférieure à  $5 \text{ m.s}^{-1}$  pendant 67% du temps d'exposition du trèfle lors de cette même campagne.

TABLEAU I  
 Rapport des activités  $\frac{\text{THO pluie}}{\text{THO eau de Meuse}}$

Stations	Tours en fonctionnement			Tours à l'arrêt			
	Campagnes			Campagnes			
	C1	C2	C6	C3	C4	C5	C7
1	0,11	0,27	0,34	0,12	0,70	0,16	0,32
2	0,11	0,23	0,38	0,12	0,70	0,16	0,32
3	0,11	0,23	0,37	0,12	0,72	0,16	0,40
4	0,12	0,26	0,28	0,12	0,61	0,13	0,24
5	0,11	0,23	0,34	0,12	0,69	0,16	0,26
6	0,11	0,23	0,34	0,12	0,70	0,16	0,29
7	0,20	0,26	0,34	0,12	0,61	0,19	0,37
8	0,11	0,30	0,34	0,12	0,61	0,15	0,30
9	0,15	0,23	0,40	0,12	0,75	0,16	0,27

GRAPHIQUE 1.  
Teneur en  $H^3$  dans l'eau libre du trèfle cultivé dans  
les stations.



b) Tritium lié sous forme organique (OBT)\*\*

Le tritium trouvé dans la matière organique du végétal provient essentiellement de l'incorporation due au phénomène de photosynthèse, lequel associe l'hydrogène de l'eau au carbone du  $\text{CO}_2$  pour synthétiser la matière organique.

C'est pourquoi l'effort principal s'est porté sur la détermination des teneurs en tritium de la matière organique des végétaux exposés, laquelle " intègre " le tritium présent dans la vapeur d'eau atmosphérique et les précipitations atmosphériques ; l'OBT est donc le reflet, en absence de toute source de tritium sous forme organique pour la plante, de la teneur moyenne en tritium de l'eau présente dans l'environnement immédiat du végétal durant la période d'exposition ( 3).

On devrait donc trouver des valeurs du rapport des activités spécifiques du tritium organique ( OBT ) au tritium présent dans l'eau de pluie collectée dans les stations, inférieures ou égales à 1, ce dernier cas signifiant que le tritium de l'eau du sol est en équilibre avec le tritium présent dans la vapeur d'eau atmosphérique.

Or les valeurs observées dans toutes les stations( Tableau II ) sont nettement supérieures à l'unité et cela pour les deux espèces végétales considérées, les différentes stations et le mode de fonctionnement des tours.

Une source potentielle de tritium organique susceptible d'interférer est la matière organique présente dans les sols de culture. L'analyse des teneurs en tritium de ces derniers a montré un niveau d'environ 30 Bq/kg M.O. dans le cas des sols utilisés lors de la campagne 1 (  $C_1$  ) et des valeurs oscillant entre 12 et 17,6 Bq/kg M.O. pour les sols utilisés lors des campagnes 2 et 3 (  $C_2$  et  $C_3$  ), valeurs plus faibles en raison de l'ajout de tourbe au sol.

Cependant la matière organique du sol ne semble pas jouer un rôle prépondérant car des valeurs du rapport OBT/eau de pluie, supérieures à l'unité ont aussi été relevées lors des campagnes 5, 6 et 7 au cours desquelles les végétaux avaient été cultivés sur de la vermiculité/perlite ( substrat inerte ).

Enfin les valeurs en OBT des végétaux exposés un mois ne sont guère différentes des valeurs mesurées dans les végétaux avant exposition.

\*\* : Organically bound tritium.

TABLEAU II

Rapport des activités spécifiques  $\frac{\text{OBT végétal}}{\text{THO pluie}}$

Végétal	Endroit**	Tours en fonctionnement			Tours à l'arrêt			
		Campagnes			Campagnes			
		C1	C2	C6	C3	C4	C5	C7
Ray-Grass	Vallée	5,7±1,4	6,5±1,6	4,5±1,1	4,0±1,0	6,4±1,6	2,0±0,5	3,6±0,9
	Plateau	5,5±1,4	5,6±1,4	4,5±1,1	4,5±1,1	4,5±1,1***	2,3±0,6***	-
	Sart-Tilman	3,3±0,8	4,7±1,2	7,8±2,0	1,0±0,2	3,6±0,9	-	1,8±0,4
Trèfle Violet	Vallée	4,0±1,0	7,2±1,8	-	4,9±1,2	4,0±1,0	-	-
	Plateau	3,9±1,0	6,1±1,5	-	5,5±1,4	6,1±1,5	-	-
	Sart-Tilman	2,5±0,6	11,4±2,8	-	2,7±0,7	2,6±0,6	-	-

\*\* : Vallée = moyenne des stations 1,2,3,4,6,7

Plateau = moyenne des stations 8,5

Sart-Tilman = station 9

\*\*\*: 1 seule valeur.



Ce phénomène " parasite " est d'autant plus gênant que les différences des niveaux en  $^3\text{H}$  due aux régimes des tours, effets que l'on essaye de mettre en évidence, sont inférieures à un facteur 2.

Nous avons donc été amenés à considérer les teneurs en tritium organique de diverses espèces végétales terrestres présentes de façon permanente sur le site de la Centrale et dans les environs. Des échantillons de sols ont aussi été prélevés et analysés.

### 3.3. Teneurs en tritium organique (OBT) des végétaux et des sols, in situ.

Les valeurs observées dans les sols et les végétaux analysés sont indiquées dans le tableau III. L'examen de ce tableau révèle immédiatement une différence très marquée entre les teneurs de l'herbe récoltée dans la station témoin ( Station 9 ) et l'herbe récoltée aux environs immédiats des tours de réfrigération et près du C.E.R.E.R.

Les teneurs en OBT d'organes de platanes et de pins situés près des réfrigérants sont nettement plus faibles ( environ la moitié ) que les teneurs en OBT de l'herbe récoltée sur le site de la Centrale.

Du tritium organique est aussi présent dans la matière organique du sol ( Tableau III ) et des valeurs comparativement élevées ont été observées dans les sols prélevés près des tours.

Les données recueillies actuellement sont trop peu nombreuses pour permettre de tirer des conclusions quant au rôle du tritium lié organiquement (OBT ) dans le sol, sur le niveau observé dans le végétal poussant sur ce sol. Des études en conditions contrôlées sont en cours actuellement au C.E.N. afin d'obtenir plus d'informations dans ce domaine.

### 3.4. Teneurs en tritium organique ( OBT ) des végétaux aquatiques récoltés in situ.

Il a paru intéressant de déterminer les teneurs en tritium des algues poussant dans le bassin supérieur des tours ainsi que sur les piliers du bassin inférieur, algues qui sont soumises à l'action directe de l'eau de Meuse circulant dans les tours.

Des algues poussant dans un étang alimenté par l'eau de Meuse ont aussi

TABLEAU III

Teneurs en tritium lié organiquement (OBT) de diverses espèces terrestres et de sols du site et des environs de la Centrale de Tihange.

Endroit de récolte ou de prélèvement	Nature de l'échantillon	Teneur en $^3\text{H}$ organique ( Bq/kg M.O. )	
		Moyenne	Extrêmes
Site de la Centrale			
Station 2	Sol	22,5	17,5 - 39,6
Station 3	Sol	14,8	4,8 - 38,5
Station 4	Sol	43,2	9,1 - 129,7
Hors station	Platane (feuille)	21,3	
	Pin (bois)	24,2	
	(aiguilles)	23,8	
	Herbe	42,8	
Huy, école d'Agriculture			
Station 6	Sol	26,4	25,4 - 27,1
C.E.R.E.R., Station 1	Sol	27,7	20,4 - 32,6
id.	Herbe	42,4	
Ampsin, rive gauche			
Station 7	Sol	19,0	16,5 - 21,1
Sart-Tilman			
Station 9	Sol	28,6	24,4 - 36,3
id.	Herbe	6,6	

fait l'objet d'analyses ( Tableau IV). La comparaison des teneurs en  $^3\text{H}$  organique de ces algues avec celles des végétaux récoltés in situ ( Tableau III ) montre que les valeurs sont similaires. Il n'en va pas de même pour les teneurs en  $^3\text{H}$  organique des algues récoltées sur les piliers et encore moins pour celles provenant du bassin supérieur des tours de réfrigération.

Ces résultats montrent que des molécules organiques tritiées biologiquement disponibles, étaient présentes dans l'eau de Meuse utilisée pour la réfrigération. La présence de tels composés organiques tritiés dans les cours d'eau belges a par ailleurs été mise indirectement en évidence (4).

#### 4. Conclusions

Les résultats de l'étude expérimentale ont montré que le fonctionnement des tours de réfrigération à tirage forcé équipant la Centrale de Tihange-1 n'a pas d'effet mesurable sur le niveau de contamination en tritium des végétaux exposés, de la vapeur d'eau atmosphérique ainsi de la pluie récoltée dans les tations.

L'utilisation méthodique de végétaux cultivés pour la mise en évidence du transfert de l'eau tritiée d'un cours d'eau à l'environnement terrestre du site où les tours sont installées est limitée en raison de la présence de sources de tritium organique, notamment au niveau du sol.

L'examen des teneurs en tritium organique de quelques échantillons de sols et de végétaux terrestres du site a montré un effet localisé des tours de réfrigération mais d'ampleur limitée.

Enfin l'analyse des algues croissant dans les tours de réfrigération a révélé des teneurs en tritium organique de 3 à 9 fois plus élevées que celles des végétaux du site ainsi que des teneurs de l'eau de combustion de 4 à 14 fois plus élevées que celles de l'eau de Meuse ce qui indique la présence dans cette dernière de molécules organiques tritiées, biologiquement disponibles.

TABLEAU IV

Teneurs en tritium lié organiquement (OBT) de diverses espèces végétales aquatiques récoltées sur le site de la Centrale de Tihange

Récolte		Végétaux				
Date	Endroit	Espèce	Quantité récoltée (g.M.S.)	Teneurs en cendre (g)	Teneurs en mat.org. (g)	Teneurs en <sup>3</sup> H (Bq/kg MO)
21/12/78	Etang CERER (Eau de Meuse)	Hydrodictyon	113,36	53,78	59,58	31,0
	Tours de réfrigération					
	- piliers	Algues en mélange	70,07 72,79	42,26 44,57	27,81 28,22	75,4 88,8
	- bassin supérieur	Algues en mélange	44,08	29,46	14,62	281

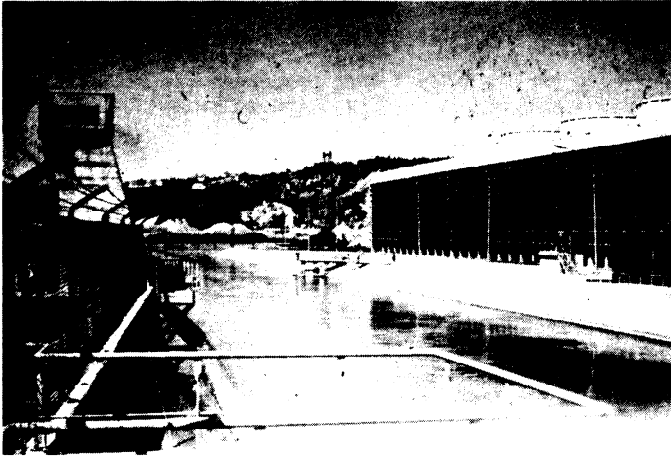
## Références

1. COUTANT,C.,TAYLOR,F.G. STI/DOC/10/202, (1980) IAEA,Vienna.
2. KIRCHMANN,R.,FONTAINE-DELCAMBE,P.,EMPAIN,A.,DE BOUVER,M.J.,DESCY,J.P.,  
DUPONT,J.C.,MEURISSE-GENIN,M.COLLIGNON,E.  
Méthodes expérimentales pour l'évaluation de l'impact de centrales  
nucléaires sur l'environnement. IIeme Symp.Intern.Radioécologie,  
(1979) Cadarache.
3. KRISHNAMOORTHY,T.M.,UYENGAR,T.S.,SOMAN,S.D.,SOLIS DE BRAVO,G.,  
ORTIZ MAGANA,J.R.,ARCHUNDIA,C.,MARTINEZ DE ALVA,L.L.,DE NULMAN,R.M.,  
JUAN,N.B.,YUTHAMANOP,A. STI/PUB/498,SM-232/100,(1979), 385 - 403.
4. KIRCHMANN,R.,DUPONT,J.C. Bull.Rech.Agron.Gembloux, 16,2,(1981),111-136.

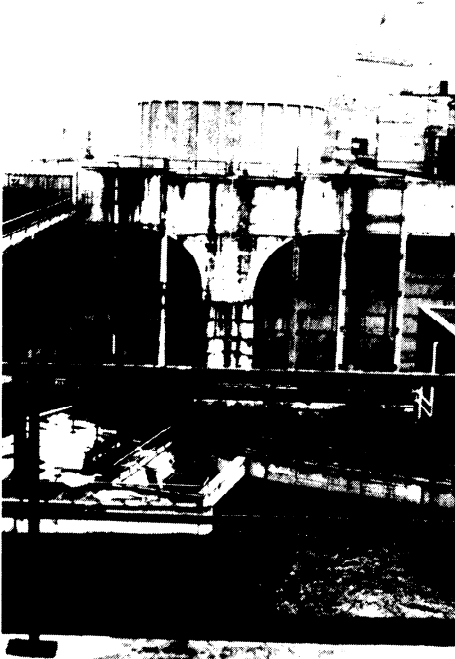
## Remerciements

Les auteurs remercient vivement le Dr.G.Koch ,du département Métrologie du CEN/SCK ainsi que le Dr.Lejeune ,de l'Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie à Bruxelles, pour l'aide précieuse apportée pour les mesures " bas niveaux " des échantillons récoltés.

Leurs remerciements vont aussi à Mme Klaus, Mr.Bourdouxhe, Mr.Cordonnier, Prof.Lambinon ainsi qu'à la Direction de l'Ecole d'Horticulture de Huy pour avoir autorisé l'installation du matériel expérimental sur leurs propriétés et domaines.



Vue d'une des deux batteries de tours de réfrigération à tirage forcé de la Centrale Nucléaire de Tihange-1.



Vue des tours de réfrigération en fonctionnement ainsi que du canal d'alimentation.

SAMENVATTING.

De impactstudie rond de koeltorens van de kerncentrale van Tihange I werden gestart in 1978. Het eerste jaar behandelde deze studie de transfer in het omgevend landmilieu van het tritium vrijgegeven in het Maaswater, stroomopwaarts van deze kerncentrale. In 1978 werden vier groei campagnes voor planten van een maand elk op punt gesteld : twee campagnes met de koeltorens in werking en twee campagnes met de koeltorens buiten werking.

De meetresultaten in verband met de tritiumconcentraties in het Maaswater, het regenwater, de waterdamp van de lucht en het weefselwater van de planten gekweekt in de 9 stations rond de centrale, toonden aan dat de koeltorens geen waarneembare invloed hebben op het gehalte aan tritium gevonden in de blootgestelde planten. Daarenboven de vergelijking van de verhoudingen van de specifieke activiteit in de organische stof (OBT) van de planten en van de activiteit in het regenwater (s.a. ratio OBT plant/THO regen) tonen geen veelbetekend verschil tussen de verschillende planten, noch tussen de planten van de verschillende stations, ongeacht het wel of niet in werking zijn van de koeltorens. Het is nochtans zo dat deze verhouding een waarde heeft die tussen 2.7 en 7.0 ligt, dit betekent dat een organische  $^3\text{H}$  bron beschikbaar is voor de plant, blijkbaar niet het substratum.

Anderzijds het gehalte aan organisch gebonden tritium aanwezig in de bladeren van de bomen in de omgeving van de kerncentrale, en algen die groeien in een vijver die voortdurend bevoorrad wordt door het Maaswater, vertoonden dezelfde concentratie ongeveer als deze van de planten gekweekt in de verschillende stations. Het gehalte aan organisch gebonden tritium gevonden in algen die groeien in de koeltorens vertonen veelbetekende (3 tot 9 maal) hogere waarden. Deze vaststelling is een aanduiding dat waarschijnlijk biologisch beschikbare getritieerde organische molekulen aanwezig zijn in het Maaswater.

ABSTRACT.

The studies on the impact of the cooling towers ( mechanical draught ) of the Tihange-1 Nuclear Power Plant, started in 1978. The first study dealt with the evaluation of the transfer in the terrestrial environment of the tritium released in the Meuse River, upstream of the NPP. This study involved, in 1978, four campaigns of plants exposure of one month duration each, two with the cooling towers in operation and two without. In 1979, three campaigns were performed, one with the towers in operation.

The results of measurement of the tritium content of the Meuse water, rain-water, water vapor in air as well as the tissue free water (TFWT) of the plants cultivated in the 9 stations have shown that there was no influence, except in one case, due to the operation of the towers, on the levels of TFWT in the exposed plants.

Besides, the comparison of the ratios of the specific activities (OBT plant, THO rain)

does not show a significant difference between the plants, neither between the stations, with or without the towers operating.

One sees nevertheless that this ratio has a value ranging from 2.7 to 7.0 which means that an organic  $^3\text{H}$  source is available for the plant, this does not seem to be the substratum.

On the other hand, the OBT contents of the foliage of trees growing on the site and of algae growing in a pond receiving the water from the Meuse are about the same as the values observed in the plants grown at the stations. On the contrary the OBT content of algae growing in the cooling towers are significantly higher ( 3 to 9 times ), which would indicate the presence in the Meuse Water of tritiated organic molecules biologically available.

ZUSAMMENFASSUNG.

Die Untersuchungen über den Einfluss der Kühltürme (mechanischer Zug) an der Kernzentrale Tihange-1 begannen 1978. Die erste Untersuchung befasste sich mit der Bestimmung des Transfers in der Landumgebung stromaufwärts der Maas. Diese Untersuchung bestand aus 4 Reihen von Pflanzenexpositionen von einem Monat Dauer, zwei davon während des Betriebs der Kühltürme, zwei ohne deren Betrieb. Drei Versuchsreihen eine davon während des Betriebs, folgten 1979.

Die Ergebnisse der Tritiummessungen im Maaswasser, im Wasserdampf der Luft sowie des freien Gewebewassers (TFWT) der in der 9 Stationen kultivierten Pflanzen zeigten keinen Einfluss des Betriebs der Kühltürme auf das TFWT in den exponierten Pflanzen ausser in einem Fall.

Zudem ergab ein Vergleich des spezifischen Aktivitätsverhältnisses OBT Pflanzen / THO regen keine Unterschiede zwischen Pflanzen oder Stationen in Abhängigkeit vom Betrieb der Kühltürme.

Es ist jedoch bemerkenswert, dass dieses Verhältnis einen Wert von 2.7 - 7.0 hat, ein Hinweis dafür, dass eine organische Tritiumquelle, die nicht das Nährsubstrat ist, den Pflanzen zur Verfügung steht.

Andererseits ist das OBT in den Blättern der Bäume, die in der Umgebung wachsen, und in Algen aus einem durch Maaswasser gespeisten Teich etwa derselbe wie in den an den Stationen kultivierten Pflanzen. Dagegen ist der OBT Gehalt der Algen, die in den Kühltürmen wuchsen, wesentlich ( 3 - 9 mal ) grösser, ein Hinweis darauf, dass sich in der Maas biologisch verwertbare organische tritierte Moleküle befinden.



Annales de l'Association Belge de Radioprotection, vol. 7, n° 3-4 (1982).

VAPOR EXCHANGE BETWEEN ATMOSPHERE AND SOIL WITH RESPECT TO  
THE TRANSFER OF TRITIUM.

Bunnenberg, C. <sup>\*</sup>, Kühn W. <sup>\*</sup>, Ujeno, Y. <sup>\*\*</sup>

\* ) Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung mbH  
Abteilung für Ökologische Physik, Herrenhäuser Str.2  
D-3000 Hannover 21, FRG

\*\* ) Kyoto University, Faculty of Medicine, Department of  
Experimental Radiology, 606 Kyoto, Japan

Abstract

Field measurements of the daily moisture content changes of the upper soil layers were carried out with a new instrument providing a spatial resolution of 2-mm layers. It was found that there is a condensation of atmospheric humidity on the soil surface ranging up to 1 mm of precipitation per night and that a considerable part of this moisture gain is not evaporating during the next day but is diffusing into deeper layers. A new formula is proposed to describe vapor transport between atmosphere and soil considering the sorption properties of the exposed surface. Three ways of estimating the resulting surface contamination are presented for the case of HTO-containing humidity in the vicinity of a nuclear power plant and found to correspond to washout contributions. It is concluded that the specific activity model does not yield sufficiently conservative values especially in case of higher short-term emissions and that more detailed knowledge is needed also with respect to isotopic effects on the pathways of HTO from the atmosphere to the root zone of plants regarding the high releases from reprocessing plants and possibly fusion reactors.

## 1. Introduction

The commonly adopted mathematical procedure to estimate the radiation burden from tritium released mainly as HTO with the waste air from nuclear facilities is based on the specific activity model, which was proposed by Anspaugh and his coworkers [An 73]. The essential feature of this model is the assumption that the tritium-to-protium ratio in vegetation water cannot be higher than that in the air humidity to which the vegetation is exposed. This is a reasonable assumption as far as the direct transfer of tritium from the atmosphere into the aerial parts of plants is concerned. On one hand this transfer may occur by way of gas exchange between leaves and atmosphere, which must be considered a small effect. On the other hand a net vapor transport into the leaves takes place only in the case of relative humidities above about 97% and high internal water suctions. Under normal meteorological and physiological conditions the dominant part of a plant's water demand is taken up from the soil. Therefore, the main source of tritium contamination of vegetation is the soil water, and consequently all tritium pathways from tritium emitters to the soil must be considered. The specific activity model can only be expected to yield sufficiently conservative estimations of the radiation burden, when the T/H-ratio in the soil water is lower than that in the atmospheric humidity.

## 2. Tritiated water pathways in the atmosphere-soil system.

The main pathways of HTO water and vapor from a nuclear facility into the environment are schematically shown in Fig. 1. The greater portion of the waste tritium from power plants is released with the liquid effluents into open waters, which are used for drinking and irrigation either directly or after penetrating through the soil and mixing with the ground water. After evaporation from water surfaces this tritium contributes to the contamination of the atmosphere.

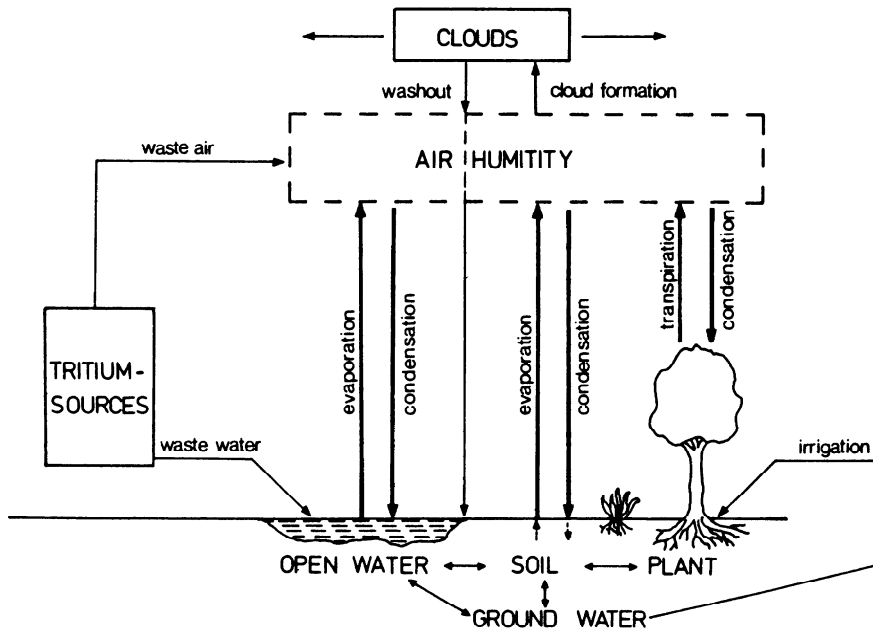


Fig.1

HTO-pathways from a nuclear facility into the environment

The HTO vapor released with the waste air mixes with the atmospheric humidity on the way from the stack into the environment. The specific activity of the vapor in the vicinity of plants at the critical distance from the stack is usually applied to estimate vegetation contamination according to the specific activity model [BMI 79]. Washout contributions to the soil and plant activities are neglected, although the tritium concentration in rainwater is higher than in the atmospheric humidity at any distance from the stack for release heights around 100 m and higher [Vo 79]. Another possible tritium pathway, which is not considered and which is the concern of this investigation, is the condensation of atmospheric humidity on the soil surface. The effectiveness of such processes is, of course, depending upon the meteorological and soil physical parameters of the

area under consideration. Additionally, isotopic effects may play a role in vapor transfer. They are active in condensation and evaporation processes favoring the heavier HTO molecule to accumulate on the soil surface and also during vapor diffusion within the soil, which is partially an evaporation at one end of the pore and condensation at the other, leading to an HTO derichment of the diffusing vapor, i.e. an accumulation in the upper soil layers. Therefore, vapor exchange and diffusion processes deserve more attention.

### 3. Determination of condensation and evaporation on the soil surface.

Reliable experimental determinations and theoretical estimations of the daily gains and losses of moisture at the soil surface are difficult due to the lack of proper measuring instruments and appropriate formulae. Commonly used condensation or dew measuring devices, as e.g. reviewed by Noffsinger [No 65], disturb the microclimatic conditions in such a way that no realistic information is obtained. Soil moisture probes fail in determining condensation gains because of their poor spatial resolution [Ah 77], [Kü 78]. Therefore, a new instrument was developed for the continuous measurement of the soil moisture in a pattern of 2-mm soil layers from the soil surface down to a depth of 80 mm. It is based on the electrical conductance method and is described in detail elsewhere [Bu 80]. An example of moisture profiles determined in the field during a 24-hour period is given in Fig. 2. The first profile was recorded at noon. Beginning around 4 o'clock in the afternoon the soil surface starts to gain moisture till about 6 the next morning, about half an hour after sunrise. Then the surface starts to dry out mainly by evaporation. However, as can be seen from the proceeding moisture front, part of the moisture is driven downwards due to pronounced temperature gradients, as the soil surface is heated by the sun.

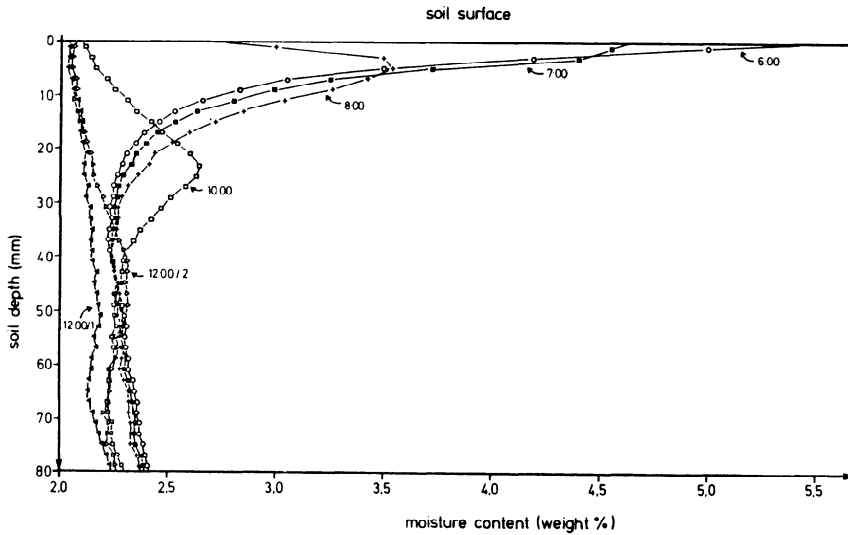


Fig. 2

Moisture profiles of the top soil measured within a 24-h cycle.

Evaluations of the moisture profiles show a moisture gain in the 1-mm range of precipitation per night and a 10 to 50% net gain, which is not evaporating the next day but penetrating into deeper soil layers. For a radioecological estimation of the tritium transfer by condensation and evaporation processes on the soil surface near a nuclear facility on the basis of meteorological data the formulae used in meteorology, like those of Penman [Pe 48] or Monteith [Mo 63], are not applicable, as they tend to overestimate both processes especially in shorter term observations. This is due to the fact that they mainly refer to energy balances rather than mass balances.

In order to find a relationship between vapor transport and meteorological conditions, a great number of wind tunnel experiments were carried out with a  $\beta$ -absorption dew meter [Bu 77] determining condensation and evaporation rates while scanning all relevant parameters, like air

temperature and humidity, temperature and moisture of the soil surface, wind speed and soil material. The resulting formula for the vapor flux  $E$  [mm/h] is:

$$E = f_B (\sigma e_s^* \cdot e_d \cdot u) \cdot (e_d - \sigma e_s^*)$$

WITH THE TRANSFERFUNCTION:

$$f_B (\sigma e_s^* \cdot e_d \cdot u) = k \cdot e_d^l \cdot \sigma e_s^* (p \cdot e_d^q) \cdot (\alpha + u)^{0.5}$$

- $\sigma$  : RELATIVE PARTIAL VAPOR PRESSURE OF SOIL SURFACE
- $e_s^*$  [mb] : SATURATION VAPOR PRESSURE AT SOIL SURFACE
- $e_d$  [mb] : PARTIAL VAPOR PRESSURE OF AIR
- $\alpha$  [m/s] : LINEAR DIFFUSION VELOCITY OF VAPOR IN AIR
- $u$  [m/s] : WIND SPEED
- $k, l, p, q$  : EMPIRICAL CONSTANTS

The essential term is the difference between the actual vapor pressures near the soil surface  $e_d$  and directly at the surface  $\sigma e_s^*$ , which is positive for condensation and negative for evaporation. The actual vapor pressure at the soil surface is found from the saturation vapor pressure  $e_s^*$  at the momentary soil temperature multiplied by the relative vapor pressure  $\sigma$  in the soil pores, which is a function of the moisture content and commonly called sorption isotherm. This way the relevant soil physical condition of the site are taken into consideration. For plant surfaces  $\sigma = 1$  can be assumed. The transfer function describes the influence of the windspeed on the establishment of a certain vapor pressure near the soil surface. Even at zero windspeed there is a net transport by molecular diffusion due to vapor pressure gradients. Comparisons of calculated and measured values obtained in the field showed very good agreement [Bu 80a].

4. Estimations of the tritium contamination of soil and plants resulting from waste air emissions of a nuclear power plant.

Table 1 gives the specifications of a 1300-MW<sub>e1</sub> nuclear power plant and the meteorological data of a site in the north-western part of the F.R.G.

Table 1

Specifications of a nuclear power plant and estimations of the additional soil contamination by HTO-condensation

Soil contamination by HTO from Waste Air

HTO - source	: 1300MW <sub>e</sub> - KKW	Precipitation rate	: N = 250 mm/a
Emission height	: H = 50 m	Condensation rate	: $N_K = 1 \text{ mm/d} = 1.2 \cdot 10^{-2} \text{ g/m}^2 \cdot \text{s}$
Emission rate	: A = 50 Ci/a = $1.59 \cdot 10^{-6} \text{ Ci/s}$	Wind probability	: P = 20%
Duration	: t = 1 a	Mean wind speed	: $\bar{u}_a = 7.5 \text{ m/s}$
Critical distance	: x = 200 m	Washout coefficient	: c = $3.4 \cdot 10^{-8} \text{ a/mm} \cdot \text{s}$
Enrichment factor	: $K_{H_3} = 3.1 \cdot 10^7 \text{ s}$	Diffusion velocity	: v = $5 \cdot 10^{-3} \text{ m/s}$
Dispersion factor	: $\bar{x} = 2.8 \cdot 10^{-8} \text{ s/m}^2$	Mean absol. humidity	: $\varphi = 9 \text{ g/m}^3$

Estimation of the soil contamination  $C_{H_3}^{Bo}$  without considering derichments by evaporation and leaching into deeper soil layers.

HTO - path	WASHOUT	FALLOUT	CONDENSATION
	$C_{H_3}^{Bo} = A \cdot \frac{6 \cdot c \cdot N_K}{\pi \cdot x \cdot \bar{u}_a} \cdot K_{H_3}$	$C_{H_3}^{Bo} = A \cdot v \cdot \bar{x} \cdot K_{H_3}$	$C_{H_3}^{Bo} = A \cdot \frac{x}{\varphi} \cdot N_K \cdot K_{H_3}$
	<u><math>= 8 \cdot 10^{-7} \text{ Ci/m}^2</math></u>	<u><math>= 7 \cdot 10^{-7} \text{ Ci/m}^2</math></u>	<u><math>= 2 \cdot 10^{-7} \text{ Ci/m}^2</math></u>

On the basis of the dispersion kinetics of waste air released from a stack [BMI 79] and the assumptions of the specific activity model the tritium concentration in the ground level humidity at the critical distance is  $5 \times 10^{-10} \text{ Ci kg}^{-1}$  water yielding  $4 \times 10^{-10} \text{ Ci kg}^{-1}$  plant material with a plant water content of 80%.

For the estimation of the washout contribution to the plant contamination via uptake from the soil the tritium diffusion into the rooting zone and the transfer coefficient have to be considered. Diffusion coefficients for HTO in soils were found to range between  $1 \times 10^{-6}$  and  $1 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$  which leads to a mean diffusion depth of roughly 10 to 30  $\text{cm a}^{-1}$ , depending on the soil physical conditions [Na 63], [Br 69], [Am 78], [Ga 80]. Regarding an average diffusion depth of 20 cm as the rooting zone of plants the tritium washout of at least on year would be found in the soil water of the respective layer. Therefore, in the following estimations a duration of the emission of  $t = 1 \text{ a}$  is assumed resulting in an enrichment factor:

$K_{\text{H3}} = [1 - \exp(-\lambda \cdot t)] / \lambda = 3.1 \times 10^7 \text{ s}$ , with  $\lambda = \text{decay constant of tritium}$ .

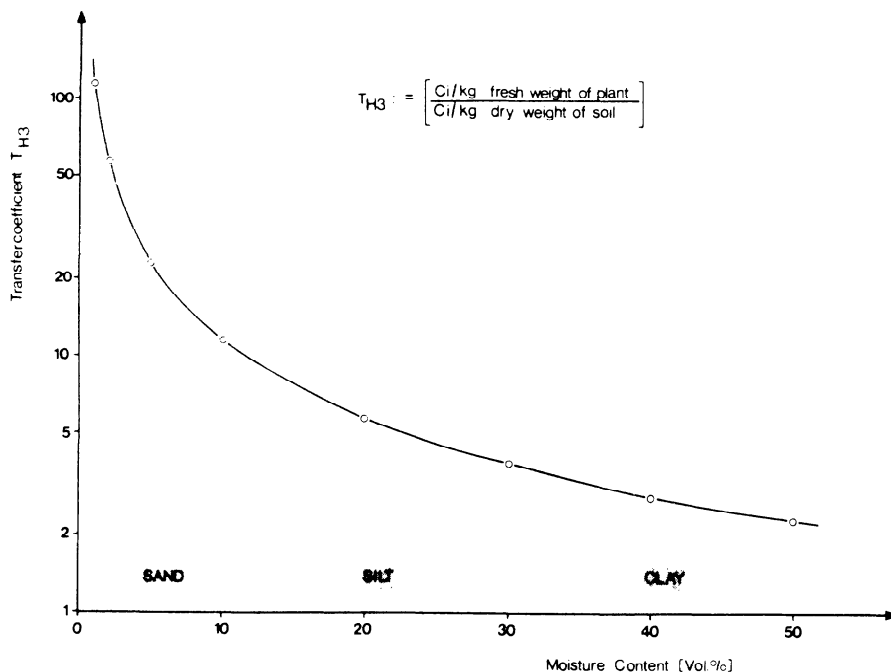


Fig. 3

Transfer coefficient of HTO in relation to moisture content with ranges between field capacity and permanent wilting point.



The transfer coefficient  $T_{H3}$  of tritium defined as:

$$T_{H3} : = \frac{Ci \text{ kg}^{-1} \text{ fresh weight of plant}}{Ci \text{ kg}^{-1} \text{ dry weight of soil}}$$

is, of course, a function of the moisture content of the soil, where  $Ci \text{ kg}^{-1}$  dry weight of soil is not a realistic but practicable expression. Fig. 3 shows this relation, and it also indicates the moisture content ranges between field capacity (right end of arrow) and permanent wilting point (left end of arrow) for the three main soil factions. For further considerations a mean transfer coefficient of  $T_{H3} = 5$  is assumed.

With a precipitation rate of  $250 \text{ mm a}^{-1}$  the washout formula [BMI 79] yields a surface contamination of  $5.3 \times 10^{-7} \text{ Ci m}^{-2}$ . For  $\rho_{\text{soil}} = 1.5 \text{ g cm}^{-3}$  this leads to a specific plant activity of  $8.9 \times 10^{-9} \text{ Ci kg}^{-1}$ , which is already more than one order of magnitude higher than expected from the specific activity model. It must be pointed out that neglecting HTO losses by evaporation denotes an upper limit of isotopic effects favoring an accumulation of HTO in the top soil. To the present knowledge this is a necessary conservative assumption.

In a similar manner the additional HTO contribution by condensation of atmospheric humidity can be estimated. The simplest way is to treat condensation as a washout process. At a condensation rate of  $1 \text{ mm d}^{-1} = 1.2 \times 10^{-2} \text{ g m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  the surface contamination would be  $8 \times 10^{-7} \text{ Ci m}^{-2}$  (first calculation of Table 1).

The second possibility is to describe condensation as a kind of "wet fallout", which requires the knowledge of a fallout velocity of the HTO molecules. The linear diffusion velocity of water molecules in air of about  $5 \text{ mm s}^{-1}$  could be assumed a reasonable value. However, it could be higher due to vapor

pressure gradients and turbulences in the lower atmosphere. Applying the fallout formula (second calculation of Table 1) one obtains a surface contamination of  $7 \times 10^{-5} \text{ Ci m}^{-2}$ , which is very close to the estimation according to the washout model.

In the third way the condensation process itself is considered, and it is assumed that the specific activity of the condensing vapor is that of the ground level humidity. A condensation rate of  $1,2 \times 10^{-2} \text{ g m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  yields  $2 \times 10^{-7} \text{ Ci m}^{-2}$ , again in the same order of magnitude as the other two estimations. Undoubtedly, this model represents physically the most realistic description of the process under consideration, while a washout modelling certainly resembles the least the actual processes of condensation. However, with respect to the fact that a condensation rate of 1 mm per night represents the humidity of an atmospheric layer of about 100 m, the assumption of a condensing specific activity equal to that of ground level humidity is likely to underestimate the HTO contribution, as also molecules from parts of the waste air plume with higher T/H-ratios participate in the condensation process on the soil surface. Taking a mean value of the three models to estimate surface contamination by condensation of HTO on the soil, namely  $5 \times 10^{-7} \text{ Ci m}^{-2}$ , the resulting activity of vegetation is  $8 \times 10^{-9} \text{ Ci kg}^{-1}$  compared to  $4 \times 10^{-10} \text{ Ci kg}^{-1}$  according to the specific activity model.

So far a transfer coefficient of 5 was applied in the estimations. As can be seen in Fig. 3 the coefficient reaches considerably higher values for lower moisture contents. In this range liquid transport decreases and vapor diffusion prevails, and consequently isotopic effects in phase transitions become more important. Therefore, two phenomena act towards higher plant activities in drier soils: the accumulations of HTO in the rooting zone due to isotopic effects and higher transfer coefficients. Although culture plants are usually growing under moist conditions, dry periods before harvest may increase tritium contamination considerably.

## 5. Conclusions

So far our investigations showed that there is an additional pathway of tritium from the atmosphere to the soil in the form of condensing humidity. It may cause surface contaminations in the same order of magnitude as washout contributions, and it is not sufficiently recognized in estimations on the basis of the specific activity model. For continuous emissions of normally operating mean size nuclear power plants the gaseous HTO effluents lead to dose rates in the sub-mrem range per year. However, in cases of higher short-term HTO-emissions and especially with regard to the emission rates of reprocessing plants and possibly fusion reactors, expected to be several orders of magnitude higher than those from power plants, the radiation burden estimated on the basis of the present knowledge is unacceptable. Therefore, more research is needed on the transfer processes of tritium to improve the models in either way, in order to obtain more realistic dose values as a basis for necessary retention measures.

## References:

- [Ah 77] Ahlgrimm, H.-J.  
Verschiedene Möglichkeiten der Feuchtegehaltsbestimmung, Landbauforschung Völkerode 27,2,1977,p.97.
- [Am 78] Ames, L.L., Rai, D.  
Radionuclide interactions with soil and rock media, Vol. I, Batelle Pacific Northwest Labs, 1978
- [An 72] Anspaugh, L.R., Koranda, J.J., Robinson, W.L., Martin, J.R.  
The dose to man via food-chain transfer resulting from exposure to tritiated water vapor, USAEC, UCRL - 73 195, Rev. 1, 1972
- (BMI 79) Bundesminister des Innern  
Allgemeine Berechnungsgrundlage für die Strahlenexposition bei radioaktiven Ableitungen mit der Abluft oder in Oberflächengewässer, 1979, p. 371
- [Br 69] Brees, D.R., Graham, E.R.  
The effect of soil texture and organic matter on the self-diffusion coefficient of tritiated water in Missouri soils, Soil Science 108, 3, 1969, p.165
- [Bu 77] Bunnenberg, C., Kühn, W.  
Application of the  $\beta$ -absorption method to measure dew on soil and plant surfaces. Int. J. of Appl. Rad. and Iso. 28, 1977, p. 751
- [Bu 80] Bunnenberg, C., Kühn, W.  
An electrical conductance method for determining condensation and evaporation processes in arid soils with high spatial resolution, Soil Science 129, 1, 1980, p. 58

- [Bu 80a] Bunnenberg, C.  
Feuchtigkeitsaustausch zwischen Atmosphäre und  
Boden im Hinblick auf den Transfer von Tritium,  
Diss. U. Hannover, GSF-Bericht BT 579, 1980
- [Ga 80] Garland, J.A.  
The absorption and evaporation of tritiated water  
vapor by soil and grassland; Water, Air and Soil  
Pollution 13, 1980, p. 317
- [Kü 78] Kühn, W.  
New radiometric and radioanalytical methods in  
agricultural research. IAEA Atom. En. Rev. 16,  
1978, p. 619
- [Mo 63] Monteith, J.L.  
Dew: Facts and fallacies. In "The water relations  
of plants", Eds. Rutter and Whitehead, 1963, p. 37
- [Na 63] Nakayama, F.S., Jackson, R.D.  
Diffusion of tritiated water in soil, Soil Sci.  
Soc. Am. Proc. 27, 3, 1963, p. 255.
- [No 65] Noffsinger, T.L.  
Survey of techniques for measuring dew. In "Humidity  
and moisture", Chap. 64, Ed. Wexler, 1965, p. 523
- [Pe 48] Penman, N.L.  
Natural evaporation from open water, bare soil and  
grass, Proc. Roy. Soc. London, Ser. A, 193  
1948, p. 120
- [Vo 79] Vogt, K.J.  
Models for the assessment of the environmental  
exposure by tritium released from nuclear installa-  
tions, IAEA - SM - 232/15, 1979

RESUME.

Des mesures sur le terrain des changements journaliers des teneurs de l'humidité des couches supérieures du sol ont été effectuées à l'aide d'un nouvel instrument fournissant une résolution spatiale de couches de 2 mm. Il a été trouvé qu'il y a une condensation de l'humidité atmosphérique à la surface du sol allant jusqu'à 1 mm de précipitation par nuit et qu'une partie considérable de cette humidité gagnée n'est pas évaporée le jour suivant mais est diffusée dans des couches plus profondes. Une nouvelle formule est proposée pour décrire le transport de la vapeur entre l'atmosphère et le sol considérant les propriétés de sorption de la surface exposée. Trois façons d'estimer la contamination de la surface qui en résulte sont présentées dans le cas d'une humidité contenant de l'eau tritiée, au voisinage d'une centrale électro-nucléaire, et ont été trouvées correspondre aux contributions du "Washout". Il est conclu que le modèle d'activité spécifique n'engendre pas de valeurs suffisamment conservatives, spécialement dans le cas d'émissions à court terme élevées et qu'une connaissance plus détaillée est nécessaire également eu égard aux effets isotopiques lors du cheminement de HTO de l'atmosphère à la zone racinaire des végétaux, considérant les rejets élevés des usines de retraitement et, le cas échéant, des réacteurs de fusion.

SAMENVATTING.

Terreinmetingen van de dagelijkse veranderingen van het vochtigheidsgehalte in de bovenste grondlagen werden uitgevoerd met een nieuw apparaat dat een ruimtelijke resolutie toelaat in 2 mm lagen. Een condensatie van de luchtvochtigheid op het grondoppervlak van ongeveer 1 mm neerslag per nacht werd vastgesteld. Een groot gedeelte van de aldus toegevoerde vochtigheid wordt niet terug verdampt gedurende de volgende dag maar verplaatst zich naar diepere lagen. Een nieuwe formule wordt voorgesteld om het transport van damp tussen de atmosfeer en de grond te beschrijven rekening houdend met de sortie eigenschappen van de blootgestelde oppervlakte. De besmetting aan de oppervlakte die optreedt tengevolge van THO bevattende luchtvochtigheid in de nabijheid van een kerncentrale werd op 3 wijzen geschat en men kon vaststellen dat deze overeenkomt met "washout" bijdragen. Men kon besluiten dat het specifiek activiteitsmodel onvoldoende conservatieve parameters bevat voornamelijk in het geval van belangrijke korte termijn emissies en daarenboven meer gegevens nodig zijn in verband met de isotopische effecten die het transport van THO van de atmosfeer naar de wortelzone van de plant kunnen beïnvloeden in het geval van belangrijke lozingen door heropwerkingsbedrijven en eventueel door de toekomstige fusiereactoren.

### Zusammenfassung

Feldmessungen der täglichen Feuchtegehaltsänderungen der oberen Bodenschichten wurden mit einem neuen Meßgerät durchgeführt, das eine räumliche Auflösung in 2 mm Bodenschichten ermöglicht. Sie zeigten eine Kondensation von atmosphärischer Feuchtigkeit an der Bodenoberfläche mit bis zu 1 mm Niederschlag pro Nacht. Ein beträchtlicher Teil dieses Feuchtigkeitsgewinns verdunstet nicht während des nächsten Tages, sondern diffundiert in den Boden hinein. Es wird eine neue Formel angegeben, die unter Berücksichtigung der Sorptionseigenschaften der exponierten Oberfläche den Dampftransport zwischen Atmosphäre und Boden beschreibt. Die daraus resultierende Oberflächenkontamination für den Fall einer HTO verseuchten Luftfeuchtigkeit in der Nähe eines Kernkraftwerks wird auf drei verschiedene Arten abgeschätzt mit dem Ergebnis, daß sie dem Washout-Beitrag entspricht. Es ist daraus zu schließen, daß das spezifische Aktivitätsmodell besonders im Fall höherer Kurzzeitemissionen keine ausreichend konservativen Werte liefert. Es sind daher genaue Kenntnisse auch im Hinblick auf Isotopieeffekte auf den Tritiumpfaden von der Atmosphäre in den Wurzelbereich der Pflanze nötig, vor allem in Anbetracht der hohen Emissionen aus Wiederaufbereitungsanlagen und möglicherweise Fusionsreaktoren.

Annales de l'Association Belge de Radioprotection, vol. 7, n° 3-4 (1982).

MODELISATION DU TRANSFERT DE HTO  
ENTRE L'ATMOSPHERE ET LE SOL

Application au transfert de la  
vapeur d'eau tritiée

BELOT Y.\* et DELFORGE J.\*\*

\* Département de Protection, C.E.A. Fontenay-aux-Roses, B.P. n° 6, 92260 Fontenay-aux-Roses (France)

\*\* Département de Biologie, C.E.N.-Saclay, 91191 Gif-sur-Yvette Cedex (France)

Résumé

Un modèle dynamique a été construit pour simuler le mouvement du tritium entre l'atmosphère et le sol. Pour ce faire, la couche de sol considérée a été subdivisée en 300 couches élémentaires de 0,1cm d'épaisseur. Le contenu en tritium de ces couches élémentaires a été décrit par un système de 300 équations linéaires du premier ordre avec des coefficients variables. On a supposé que les coefficients étaient fonction de la diffusion de l'eau tritiée à l'interface sol-atmosphère, de la diffusion du tritium dans le sol et de l'écoulement gravitaire de l'eau. Les valeurs de ces coefficients ont été estimées d'après les résultats expérimentaux les plus récents. Des calculs préliminaires ont été effectués au moyen de ce modèle pour évaluer le mouvement du tritium dans le cas d'un sol exposé, de façon unique ou répétée, à une atmosphère contenant de la vapeur d'eau tritiée lessivée éventuellement par les précipitations.



Notations

- $A_p$  Activité surfacique de l'eau dans la couche de sol d'indice  $p$  compris entre 1 et  $n$  ( $pCi\ m^{-2}$ ).
- $C_s$  Activité massique moyenne de l'eau dans la tranche de sol, explorée par les racines ( $pCi\ kg^{-1}\ d'eau$ ).
- $C_v$  Activité massique de la vapeur d'eau atmosphérique ( $pCi\ kg^{-1}\ d'eau$ ).
- $D$  Coefficient de diffusion moléculaire de l'eau tritiée ( $m^2\ s^{-1}$ ).
- $h$  Epaisseur d'une couche élémentaire de sol (m).
- $K_v$  Fraction de l'activité de la couche superficielle qui retourne à l'atmosphère par unité de temps ( $s^{-1}$ ).
- $k_d$  Coefficient de transfert entre deux couches successives de sol (transferts descendants) ( $s^{-1}$ ).
- $k_u$  Coefficient de transfert entre deux couches successives de sol (transferts ascendants) ( $s^{-1}$ ).
- $m$  Masse surfacique de l'eau dans chacune des couches de sol ( $kg\ m^{-2}$ ).
- $n$  Nombre de couches élémentaires de sol considérés dans le calcul.
- $q$  Nombre de couches élémentaires de sol contenues dans la tranche de sol explorée par les racines avec la restriction  $q \leq n$ .
- $t$  Temps (s).
- $R_s$  Flux d'eau entrant dans le système à l'interface sol-atmosphère ( $kg\ m^{-2}s^{-1}$ ).
- $v$  Vitesse d'échange de la vapeur d'eau à l'interface sol-atmosphère ( $m\ s^{-1}$ ).
- $w$  Vitesse d'infiltration de l'eau de pluie ou d'aspersion ( $m\ s^{-1}$ ).
- $\rho_a$  Concentration volumique de la vapeur d'eau dans l'atmosphère ambiante ( $kg\ m^{-3}$ ).
- $\rho_\lambda$  Concentration volumique de la vapeur d'eau dans une atmosphère saturée d'eau à la température ambiante ( $kg\ m^{-3}$ ).
- $\rho_w$  Concentration volumique de l'eau liquide ( $kg\ m^{-3}$ ).
- $\theta$  Température du sol ( $^{\circ}C$ ).

## INTRODUCTION

Un modèle de comportement du tritium dans le sol a été présenté par Sasscer et al (1971). Plus récemment, le transfert de la vapeur d'eau tritiée entre l'atmosphère et le sol a été étudié en laboratoire et sur le terrain par Garland (1979). Cet auteur a montré que le transfert était commandé par les échanges gazeux à l'interface sol-atmosphère et par la diffusion de l'eau tritiée à l'intérieur du sol. Partant de ces données de base, nous avons construit un modèle numérique de transport de HTO entre l'atmosphère et le sol, qui donne à tout instant la distribution du tritium dans le sol, connaissant l'historique de sa concentration dans l'eau atmosphérique. Ce modèle n'est qu'une partie d'un modèle plus complet qui décrit le transport du tritium dans la totalité du système sol- plante et qui sera présenté entièrement dans une publication ultérieure.

## MODELE

Description du modèle

Le modèle de transport de l'eau tritiée entre le sol et l'atmosphère est représenté schématiquement sur la figure 1. La couche de sol considérée est découpée en  $n$  couches élémentaires d'épaisseurs identiques,  $h$  (m), et de contenu en eau identique  $m$  ( $\text{kg m}^{-2}$ ). On suppose en première approximation que l'eau perdue par évapo-transpiration, est réapprovisionnée par les précipitations et que le contenu en eau du sol reste sensiblement constant dans le temps et dans l'espace, et reste voisin de la capacité au champ.

L'évolution du système est commandée, au premier chef, par l'historique de l'activité massique du tritium dans la vapeur d'eau atmosphérique, représentée par la fonction d'entrée  $C_v(t)$  ( $\text{pCi kg}^{-1}$  d'eau).

Les variables d'état du système sont les activités surfaciques  $A_1$  à  $A_n$  ( $\text{pCi m}^{-2}$ ) des couches de sol précédemment définies.

Les échanges entre les couches de sol, et avec l'extérieur du système se traduisent par le système des  $n$  équations linéaires suivantes :

$$\frac{dA_1}{dt} = R_S C_V - (K_V + k_d) A_1 + k_u A_2 \quad (1)$$

$$\frac{dA_p}{dt} = k_d A_{p-1} - (k_u + k_d) A_p + k_u A_{p+1}, \quad p=2, \dots, n-1 \quad (2)$$

$$\frac{dA_n}{dt} = k_d A_{n-1} - k_u A_n \quad (3)$$

Les échanges à l'interface sol-atmosphère sont caractérisés par deux paramètres. Le paramètre d'entrée  $R_S$  ( $\text{kg m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) est le flux d'eau qui entre dans le système au niveau de l'interface sol-atmosphère. Le paramètre de sortie  $K_V$  ( $\text{s}^{-1}$ ) est la fraction de la radioactivité de la couche superficielle du sol qui retourne à l'atmosphère par unité de temps.

A l'intérieur du sol, les couches successives sont connectées entre elles par les coefficients de transfert  $k_u$  ( $\text{s}^{-1}$ ) pour les transferts ascendants, et  $k_d$  ( $\text{s}^{-1}$ ) pour les transferts descendants.

#### Expression des paramètres de transfert à l'interface sol-atmosphère

Le flux net de tritium à l'interface sol-atmosphère est la somme d'un flux diffusif correspondant aux échanges sol-atmosphère et d'un flux convectif lié à un apport par pluie ou aspersion. Ce flux peut s'exprimer par :

$$F_S = v (\rho_a C_V - \rho_\ell \frac{A_1}{m}) + w \rho_w C_V \quad (4)$$

où  $v$  est la vitesse d'échange de la vapeur d'eau à l'interface sol-atmosphère ;  $w$  la vitesse d'infiltration de l'eau de pluie ou d'aspersion ;  $\rho_a$  et  $\rho_\ell$  la concentration volumique de l'eau dans l'atmosphère ambiante et dans une atmosphère saturée à la température du sol ;  $\rho_w$  est la concentration volumique de l'eau liquide ;  $m$  la masse surfacique de l'eau dans chacune des couches.

Le flux net  $F_s$  peut aussi être exprimé en utilisant les paramètres d'entrée et de sortie,  $R_s$  et  $K_v$ , précédemment introduits :

$$F_s = R_s C_v - K_v A_1 \quad (5)$$

En comparant les relations (4) et (5), on obtient pour les paramètres d'entrée et de sortie les expressions suivantes :

$$R_s = \rho_a v + \rho_w w \quad (6)$$

$$K_v = \frac{\rho_\ell v}{m} \quad (7)$$

Lorsque le sol est nu, la vitesse d'échange  $v$  peut être évaluée en tenant compte de la vitesse de frottement et de la hauteur de rugosité (Chamberlain 1966). Les paramètres  $\rho_a$  et  $\rho_\ell$  dépendent de l'humidité relative de l'air et de la température du sol.

#### Expression des paramètres de transfert à l'intérieur du sol

Le flux descendant du tritium à l'intérieur du sol est également la somme d'un flux diffusif et d'un flux convectif :

$$F_d = -\frac{D}{h} \left[ \frac{\rho_w A_{p+1}}{m} - \frac{\rho_w A_p}{m} \right] + w \rho_w \frac{A_p}{m} \quad (8)$$

où  $D$  est le coefficient de diffusion moléculaire de l'eau tritiée ;  $h$  l'épaisseur de chaque couche de sol ; les autres paramètres ayant la même signification que précédemment.

Le flux net  $F_d$  s'exprime aussi en utilisant les paramètres de transfert définies dans la première partie, soit :

$$F_d = k_d A_p - k_u A_{p+1} \quad (9)$$

En comparant (8) et (9), on obtient pour les paramètres de transfert ascendant et descendant les expressions suivantes :

$$k_d = \frac{\rho w}{m} \left( \frac{D}{h} + w \right) \quad (10)$$

$$k_u = \frac{\rho D}{m h} \quad (11)$$

Le coefficient ,  $D$ , de diffusion de HTO dans le sol peut être évalué en tenant compte de la diffusion en phase vapeur et en phase liquide (Garland 1979).

#### Simulation de situations réelles

La résolution du système d'équations (1) à (3), permet de calculer à chaque instant les valeurs des activités surfaciques  $A_1$  et  $A_n$ , connaissant les conditions à l'origine, la fonction d'entrée  $C_v(t)$  et les paramètres de transfert  $R_s$ ,  $K_v$ ,  $k_d$  et  $k_u$ .

La concentration moyenne du tritium dans l'eau de la couche de sol explorée par les racines est obtenue par la relation :

$$C_s = \frac{q \sum A_p}{qm} \quad (12)$$

où  $q$  est le nombre de couches élémentaires contenues dans la couche de sol explorée par les racines ( $q \leq n$ )

L'épaisseur  $h$  de chacune des couches élémentaires, donc le nombre de couches considéré dans le calcul, ne peuvent pas être choisis arbitrairement. L'épaisseur d'une couche élémentaire doit être choisie de telle sorte que, durant le pas de temps  $\Delta t$ , les atomes de tritium se distribuent de manière homogène à travers la couche. Cet objectif est atteint approxi-

mativement en prenant  $h$  tel que le temps de transit moyen des atomes dans la couche élémentaire soit égal à  $\Delta t$ . En estimant le temps de transit moyen par  $(k_u + k_d)^{-1}$ , il vient :

$$h = \left( \frac{2\rho_w D}{M} \Delta t \right)^{1/2} \quad (13)$$

où  $M$  est la masse surfacique de l'eau dans une couche de sol d'épaisseur  $1m$ . En prenant par exemple  $\rho_w = 10^3 \text{ kg m}^{-3}$ ,  $D = 3 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ ,  $M = 300 \text{ kg m}^{-3}$  et  $\Delta t = 3600 \text{ s}$ , on obtient  $h = 2,7 \times 10^{-3} \text{ m}$ . En conséquence nous avons choisi de prendre ici  $h = 10^{-3} \text{ m}$ .

Différentes fonctions d'entrée ont été utilisées selon que l'on considère une exposition unique accidentelle ou bien des expositions répétées discontinues réparties aléatoirement dans le temps. Dans tous les cas, on a donné aux paramètres de transfert les valeurs standards du tableau 1.

#### APPLICATION DU MODELE AU TRANSFERT DE LA VAPEUR D'EAU TRITIÉE

##### Exposition accidentelle unique.

La simulation d'une exposition unique a été faite en donnant à la fonction d'entrée la valeur  $C_v(t) = 1$  pendant la durée d'exposition, et  $C_v(t) = 0$  pendant le reste du temps. On a pris, par ailleurs, pour vitesse d'infiltration de l'eau la valeur  $w = 0$ , ce qui revient à considérer le cas où il ne pleut pas. L'application du modèle nous a permis de calculer l'activité massique moyenne de l'eau,  $C_s$ , dans une couche de sol d'épaisseur  $30\text{cm}$ .

Plusieurs calculs ont été effectués pour des temps d'exposition allant de quelques secondes à plusieurs heures. On constate que la valeur moyenne de la vitesse apparente de dépôt, définie de manière usuelle par  $V_d = F_s / \rho_a C_v$  est proche de  $10^{-2} \text{ m s}^{-1}$  pour un temps d'exposition de quelques secondes, et n'est plus que de  $0,3 \times 10^{-2} \text{ m s}^{-1}$  pour une exposition de 4 heures.

Par ailleurs, nous avons reporté sur la fig. 2 les courbes de décroissance de  $C_s$  après exposition, en prenant arbitrairement  $C_s = 1$  à la fin de l'exposition. Il apparaît que dans tous les cas la perte du tritium à partir du sol, après exposition, n'obéit pas à une loi exponentielle simple. La décroissance de l'activité moyenne de l'eau du sol est relativement rapide après le marquage et devient de plus en plus lente au fur et à mesure que le temps s'écoule. De plus, la perte de tritium est d'autant plus rapide que l'exposition a été plus courte et que, par conséquent, le tritium est plus près de la surface. On constate, en particulier, que la courbe obtenue pour le temps d'exposition le plus court est proche de la courbe obtenue par voie analytique par Garland (1979). La comparaison de ces deux courbes permet de s'assurer que le découpage spatial du sol est suffisamment fin pour ne pas entraîner d'erreur numérique importante.

L'allure des courbes de perte du tritium à partir du sol est en bon accord qualitatif avec les quelques résultats expérimentaux existants (Koranda et Martin 1973). Néanmoins, il apparaît difficile de caractériser la décroissance par une somme de deux exponentielles correspondant respectivement à des temps de résidence court et long. La courbe réelle qui résulte des phénomènes diffusionnels est en réalité plus complexe et ne peut pas être caractérisée par deux temps de résidence, dont le choix ne pourrait être qu'arbitraire.

Il faut remarquer que le modèle utilisé ne tient pas compte pour l'instant, des phénomènes d'échange du tritium avec l'hydrogène qui se trouve sur les particules de sol (Jordan et al 1974).

### Expositions répétées discontinues

La simulation est faite en admettant que  $C_v(t) = 1$  pendant 10% du temps en moyenne, et  $C_v(t) = 0$  pendant les 90% du temps restant, soit une concentration moyenne dans l'atmosphère  $\bar{C}_v = 0,1$ . Les périodes d'exposition sont réparties de manière aléatoire, et ont une durée elle-même aléatoire comprise entre 1 et 8 heures. Cette simulation représente schématiquement le cas d'une arrivée discontinue de vapeur d'eau tritiée, soumise aux aléas de la direction du vent.

Les figures 3a et 3b représentent l'évolution en fonction du temps de l'activité  $C_s$  de l'eau du sol dans une couche de sol d'épaisseur 30cm, respectivement en l'absence et en présence de pluie. La pluie est supposée répartie aléatoirement pendant 10% du temps. On voit que cette activité, nulle au temps zéro, augmente rapidement pendant les premières semaines, puis beaucoup plus lentement ensuite, pour atteindre les valeurs moyennes  $\bar{C}_s = 0,053$  dans le premier cas (sans pluie)  $\bar{C}_s = 0,072$  dans le deuxième cas (avec pluie) au bout de 50 semaines. On remarque sur les figures correspondantes que ces valeurs ne sont pas très éloignées de la valeur moyenne d'équilibre  $\bar{C}_s = 0,069$  calculée à partir de la relation  $\bar{C}_s = (\rho_a/\rho_l) \cdot \bar{C}_v$  obtenue en écrivant que le flux diffusionnel à l'interface sol-atmosphère est nul. On peut estimer que l'on atteint 50% de la valeur moyenne d'équilibre au bout d'environ 10 semaines dans les deux cas.



## Conclusions

Le modèle présenté ici décrit correctement l'adsorption par le sol de la vapeur d'eau tritiée (en dehors de tout phénomène de condensation), ainsi que la réévaporation de cette eau lorsque l'exposition est terminée (Garland 1979). En revanche, il ne décrit que très imparfaitement les situations où la convection est dominante, compte tenu de la difficulté à modéliser le mouvement de l'eau dans un sol non saturé. Le modèle ne peut s'appliquer en toute rigueur qu'aux sols bien approvisionnés en eau, dont l'humidité varie peu autour d'une valeur égale à la capacité au champ (field capacity).

Les calculs préliminaires de simulation que nous avons effectués nous ont montré que le tritium persistait d'autant plus dans le sol que le temps d'exposition avait été plus long. Par ailleurs, lorsque les expositions sont répétées, suite à l'émission continue d'une source atmosphérique proche, le sol se met en quasi-équilibre avec la vapeur d'eau tritiée dans un délai de quelques mois. A l'équilibre, on peut considérer que l'activité moyenne du tritium dans l'eau du sol est liée à l'activité moyenne de l'eau atmosphérique par  $\bar{C}_s = (\rho_a/\rho_g) \bar{C}_v$ , le rapport  $\rho_a/\rho_g$  étant l'humidité relative de l'atmosphère.

Ce modèle sera intégré ultérieurement dans un modèle plus complet décrivant le mouvement du tritium dans la totalité du système sol-plante.

## Remerciements

Ce travail a été partiellement financé dans le cadre du contrat BIO-B-340-81-F entre le Commissariat à l'Energie Atomique et les Communautés Européennes.

References

Chamberlain A.C. "Transport of gases to and from grass and grass-like surfaces". Proc. R. Soc. (London), Ser. A 290 (1966), 236.

Garland J.A. "Transfer of tritiated water vapour to and from land surfaces". Behaviour of tritium in the Environment I.A.E.A., Vienne (1979) - I.A.E.A.-SM 232/3.

Jordan C.F., M.L. Stewart and J.R. Kline. "Tritium movement in soils : The importance of exchange and high initial dispersion". Health Phys., 27 (1974), 37.

Koranda J.J. and J.R. Martin. "The movement of tritium in ecological systems". Tritium (Moghissi A.A., Carter M.N., Eds). Messenger Graphics, Las Vegas (1973), 430.

Sasscer D.S., Jordan C.F., Kline J.R. "Mathematical model of tritiated and stable water movement in an old-field ecosystem". Radionuclides in Ecosystems (Proc. Third National Symposium on Radioecology), (Nelson D.J. Ed.). U.S. Atomic Energy Commission, CONF - 710501-P1 (1971), 915.

Tableau 1. Valeurs standards des paramètres

Symbole	Valeur	Unité
D	$3 \times 10^{-10}$	$m^2 s^{-1}$
h	$1 \times 10^{-3}$	m
$K_v$	$4,3 \times 10^{-4}$	$s^{-1}$
$k_d$	$1,0 \times 10^{-3}$ (1)	$s^{-1}$
	$2,7 \times 10^{-3}$ (2)	$s^{-1}$
$k_u$	$1,0 \times 10^{-3}$	$s^{-1}$
m	$3 \times 10^{-1}$	$kg m^{-2}$
n	300	
$R_s$	$9,0 \times 10^{-5}$ (1)	$kg m^{-2} s^{-1}$
	$5,9 \times 10^{-4}$ (2)	$kg m^{-2} s^{-1}$
v	$1 \times 10^{-2}$	$m s^{-1}$
w	$5 \times 10^{-7}$ (2)	$m s^{-1}$
$\rho_a$	$0,9 \times 10^{-2}$	$kg m^{-3}$
$\rho_\ell$	$1,3 \times 10^{-2}$	$kg m^{-3}$
$\rho_w$	$1,0 \times 10^3$	$kg m^{-3}$
$\theta$	15	$^\circ C$

(1) sans pluie;      (2) avec pluie

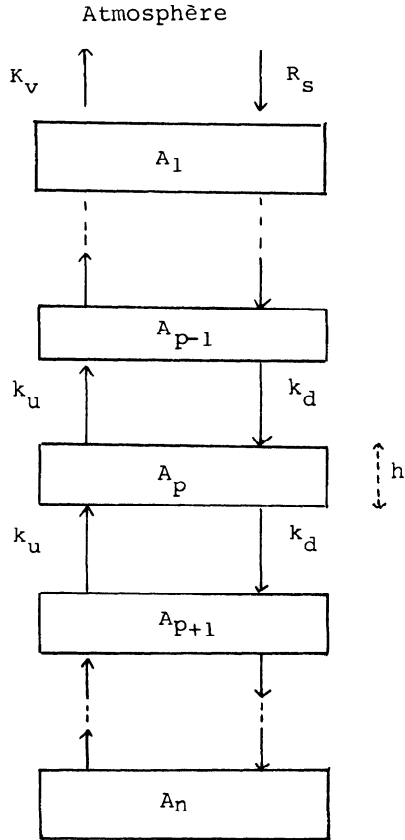


Fig 1 : Modèle de transport de l'eau tritiée entre l'atmosphère et le sol. La couche de sol considérée a été subdivisée en  $n$  couches élémentaires d'épaisseur  $h$ . La signification des symboles est donnée au début du rapport.

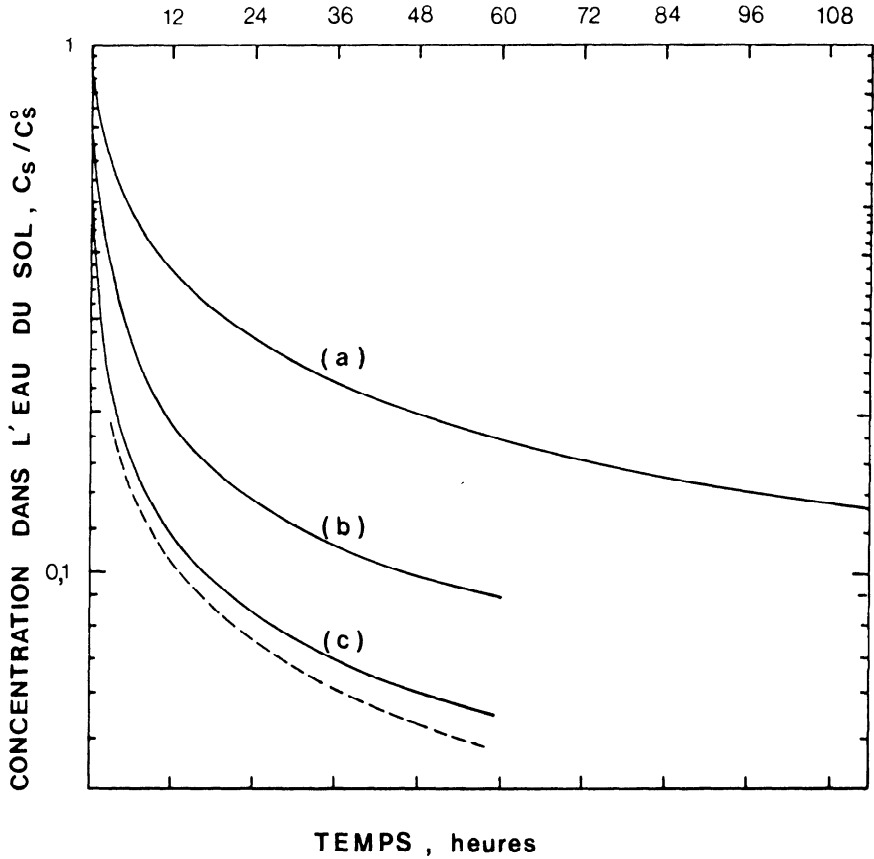


Fig.2 - Evolution de l'activité moyenne  $C_s$  de l'eau dans une couche de sol d'épaisseur 30cm, après des expositions de durées différentes.

Les durées d'exposition sont (a) : 4 heures; (b) : 0,1 heure; (c) : 0,01 heure. La courbe en pointillé est la courbe théorique de Garland (1979) correspondant à une exposition très brève.

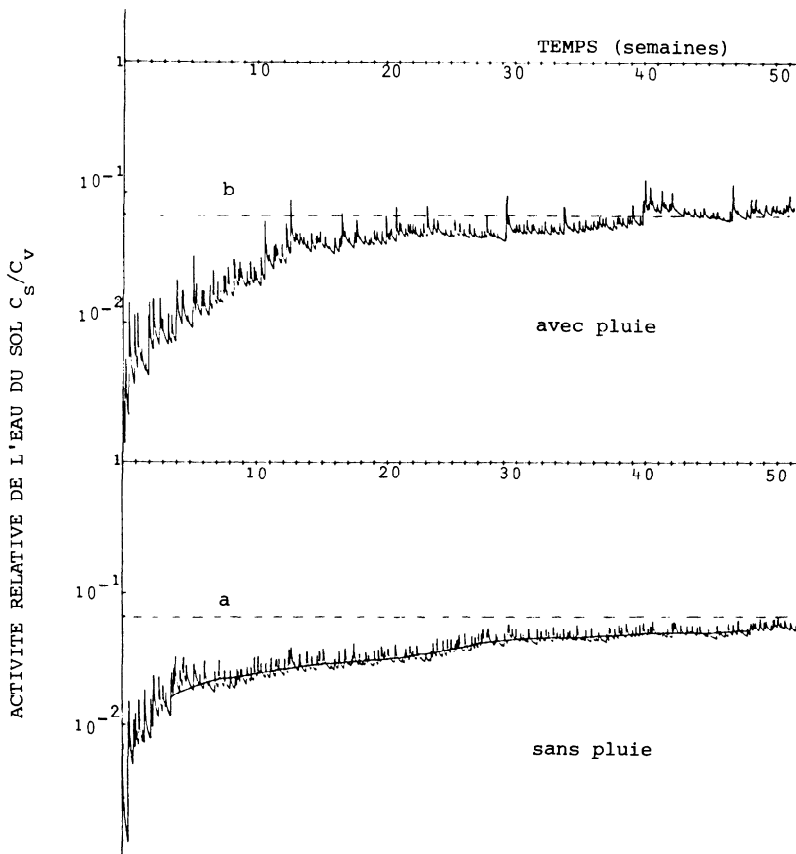


Fig.3 - Evolution de l'activité moyenne  $C_s$  de l'eau dans une couche de sol d'épaisseur  $30\text{cm}$ , dans le cas d'expositions répétées discontinues à de la vapeur d'eau tritiée, a) sans pluie, b) avec pluie aléatoire pendant 10% en temps en moyenne.

Les traits interrompus représentent l'activité moyenne de l'eau du sol en conditions d'équilibre.

SAMENVATTING.

Een dynamisch model werd uitgewerkt om de overgang van tritium uit de atmosfeer naar de grond te beschrijven.

Hiervoor werd de onderzochte grondlaag onderverdeeld in 300 elementaire laagjes met een dikte van 0,1 cm elk. De tritium aanwezig in deze laagjes werd vervolgens beschreven door 300 lineaire vergelijkingen van de eerste orde met veranderlijke coëfficiënten.

We veronderstelden dat de coëfficiënten veranderen in functie van enerzijds de diffusie van het getritieerde water aan het contact oppervlak grond-atmosfeer en van anderzijds de doorsijpeling van het grondwater onder de invloed van de zwaartekracht. De waarden van deze coëfficiënten werden geschat aan de hand van de meest recente experimentele gegevens.

Preliminair berekeningen werden uitgevoerd aan de hand van dit model ten einde de beweging van het tritiumwater te schatten in het geval van een grond éénmalig of herhaaldelijk blootgesteld aan een getritieerde dampen bevattende atmosfeer, eventueel uitgewassen door neerslag.

ABSTRACT.

A dynamic model has been built in order to simulate the transport of tritium between the atmosphere and the soil. To achieve this, the layer of soil to be considered was subdivided into 300 elementary layers of 0.1 cm thickness.

The tritium content of these elementary layers has been described by a system of 300 linear equations of the first order with variable coefficients. It was assumed that the coefficients were function of the diffusion of the tritiated water through the interface soil-atmosphere, of the diffusion of the tritium into the soil and of the gravitational flow of the water. The values of these coefficients were estimated according to the more recent experimental results. Preliminary calculations were performed using this model in order to evaluate the transport of tritium in a soil, after unique or a repeated exposure, to an atmosphere containing some tritiated water vapour, possibly leached by the precipitations.

ZUSAMMENFASSUNG.

Ein dynamisches Modell für die Simulation des Tritiumtransfers zwischen der Atmosphäre und dem Boden wurde entwickelt. Dabei wird angenommen, dass der Boden aus 300 Einzelschichten von 0,1 cm Dicke besteht, die durch ein System von 300 linearen Differentialgleichungen erster Ordnung mit variablen Koeffizienten beschrieben werden. Dabei seien die Koeffizienten eine Funktion der Diffusion des tritiierten Wassers an der Interphase Atmosphäre/Boden und des durch die Schwere bedingten Eindringens des Wassers in den Boden. Die Werte dieser Koeffizienten wurden auf der Basis neuer experimenteller Daten bestimmt.

Vorläufige Berechnungen auf der Grundlage dieses Modells wurden für den Transfer des Tritiums im Falle einer einmaligen oder mehrmaligen Exposition des Bodens mit Tritiumwasserdampf sowie nach Einwaschen durch Präzipitation durchgeführt.

Annales de l'Association Belge de Radioprotection, vol. 7, n° 3-4 (1982).

TRANSFER OF TRITIUM DISCHARGED WITH THE LIQUID EFFLUENT IN THE  
ENVIRONMENT OF THE KARLSRUHE NUCLEAR RESEARCH CENTER

König, L.A.; Langguth, K.-G.; Papadopoulos, D.

Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH  
Hauptabteilung Sicherheit/Radioökologie

Abstract

Decontaminated liquid effluents discharged from the Nuclear Research Center are carried in a 2.9 km long pipe duct into a branch of the Altrhein serving as the main canal. Mixed with surface water, the liquid effluents flow through the main canal over a distance of 23.6 km before they reach the River Rhine. The liquid effluents passing the main canal contaminate the neighboring surface waters via the ground water as well as the independent supplies of drinking water of some farms and, consequently, also the agricultural products.

1. Introduction

The waste water of the Karlsruhe Nuclear Research Center is collected in six final collection basins (four of which have capacities of 600 m<sup>3</sup> each, two of 450 m<sup>3</sup> each) prior to discharge from the Nuclear Research Center. Before being discharged, the contents of the final collection basins must be cleared by a final activity measurement. (Handling and monitoring liquid effluents at the Karlsruhe Nuclear Research Center is organized in such a way that the limits imposed upon discharges of the contents of final storage basins cannot be exceeded. Consequently, this measurement primarily serves as documentary evidence and for balancing the discharges.) The liquid effluents are passed through a pipe duct 2.9 km long into a branch of the "Altrhein," an inoperative branch of the Rhine River, which acts as a main



canal, before they reach the Rhine River, mixed with surface water, after a distance of 23.6 km.

Approximately 800 final collection basin volumes are discharged annually; their aggregate contents of alpha activity are close to 1 mCi, beta activity clearly below 100 mCi, and tritium activity between 2000 and 4000 Ci. With view to the activity levels discharged, tritium is of particular radioecological interest. Fig. 1 shows a survey of the water volumes discharged since 1969 with the tritium activities contained. Fig. 2 is a summary of the liquid effluent volumes discharged since 1980, the tritium activities discharged and the average tritium concentration in the liquid effluent broken down by quarters from early 1980. Since 1981, the longlived gross beta activity and the tritium activity of the "Altrhein" have been monitored by continuous sampling of surface water approx. 400 m downstream of the point of discharge of the liquid effluent. In this way,

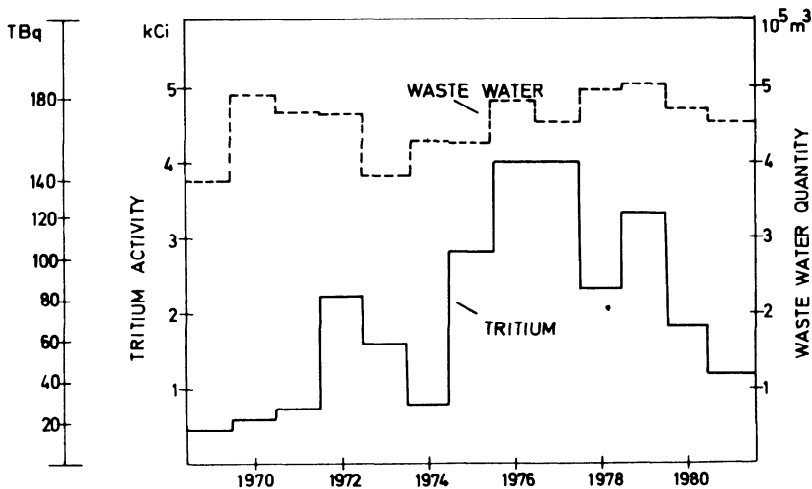


Fig. 1: Tritium Discharged with Waste Water

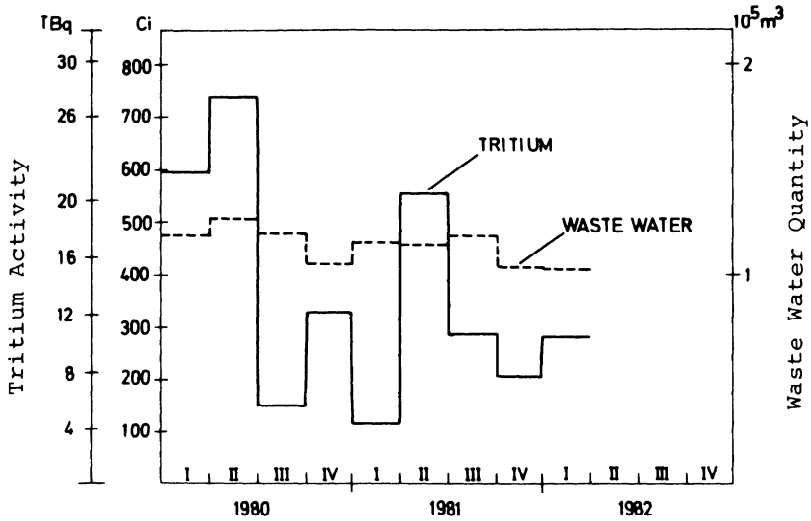


Fig. 2: Tritium Discharges with Waste Water per Quarter of a Year

the dilution of the liquid effluent in the "Altrhein," and thus the flow, can be measured directly. A first measurement series of the dilution of the liquid effluent in the "Altrhein" conducted by means of the tritium emission of the Karlsruhe Nuclear Research Center has been described in KfK Report 3073 [1]. That study, which had been carried out over a period of one year, indicated an average flow of  $0.28 \text{ m}^3/\text{s}$  at the point of discharge. The routine measurements started in 1981 yielded quarterly averages between  $0.27$  and  $0.97 \text{ m}^3/\text{s}$ . With the liquid effluent discharge volumes taken into account, the average quarterly dilutions on the way between the point of discharge and the sampling point were between  $1/18$  and  $1/74$ . One reason for the better values in 1981 is probably the precipitation volume, which had been above average. However, it must also be taken into account that complete mixing might not have occurred at the sampling point, which will falsify the results. The concentration levels measured in the "Altrhein" in 1981 were between  $26.7$  and  $90 \text{ nCi/l}$  on the quarterly average, which is

clearly above the background level set by the fallout from nuclear weapons.

As was shown in the report [1], further dilution takes place in the main canal, but the mean concentration will not fall below 15 % of the mean level at the first sampling point.

The significant burden imposed on a main canal with a low flow rate gave rise to a study of the radioecological impact of tritium discharges by the Nuclear Research Center by way of the liquid effluent.

## 2. Tritium in Surface Water Samples

The lowlands of the Rhine River Valley contain a large number of dredging pools, which are connected to the main canal by way of the ground water. Moreover, there are numerous branches of the main canal, whose flow patterns are not entirely clear. As a function of the water level of the Rhine River, locks existing in such branches are opened and closed which cannot be controlled within the framework of environmental monitoring. Table 1 is a summary of the results of a measuring campaign conducted in the lowlands. The highest tritium concentrations were found in those branches of the "Altrhein," which had direct connections to the main canal. However, with one exception, the tritium concentration is clearly elevated in those dredging pools which have no surface connections to the main canal. Fig. 3 is a plan of the sampling locations within the lowlands.

No. in Fig. 3	Sampling	Tritium concentration in	
		nCi/l	Bq/l
1	dredging pool Linkenheim	0.73±0.19	27± 7
2	lake Mittelgründloch	1.10±0.20	41± 7
3	dredging pool Liedolsheim	0.37±0.17	13± 6
4	dredging pool Liedolsheim	0.54±0.19	20± 7
5	Altrhein Rußheim	4.20±0.33	155±12
6	Altrhein	31.80±1.30	1177±48
7	dredging pool Aussiedlerhöfe	3.40±0.29	126±11
8	lock Germersheim	35.0 ±1.50	1300±60
9	dredging pool Rheinsheim	0.39±0.17	14± 6
10	dredging pool Philippsburg	0.30±0.17	11± 6
11	dredging pool Philippsburg	0.26±0.16	10± 6
12	dredging pool Philippsburg	<0.15	<6
13	Altrhein-Isle Korsika	9.0 ±0.50	333±20
14	Altrhein	9.5 ±0.50	352±20

Table 1: Tritium Concentration in Surface Water  
(Date of Sampling, July 3, 1981)

### 3. Tritium in the Ground Water

After the findings made in dredging pools with slightly increased tritium levels had indicated some tritium contamination of the ground water, it was obvious that the extent of such contamination had to be pinpointed by specific measurements [2]. For this purpose, first of all tritium assays were made in single wells existing in the region of the main canal. They revealed that a number of wells were of no interest for purposes of continuous monitoring, either because the tritium concentrations were very low, or because the wells were not used as drinking water supplies. For monthly monitoring, four independent water supply systems of three farms and one inn were selected. The results obtained are plotted in Fig. 4 as a function of time and in Table 2 respectively [3]. For closer examination of the extent of tritium contamination, water was sampled from 50 ground water

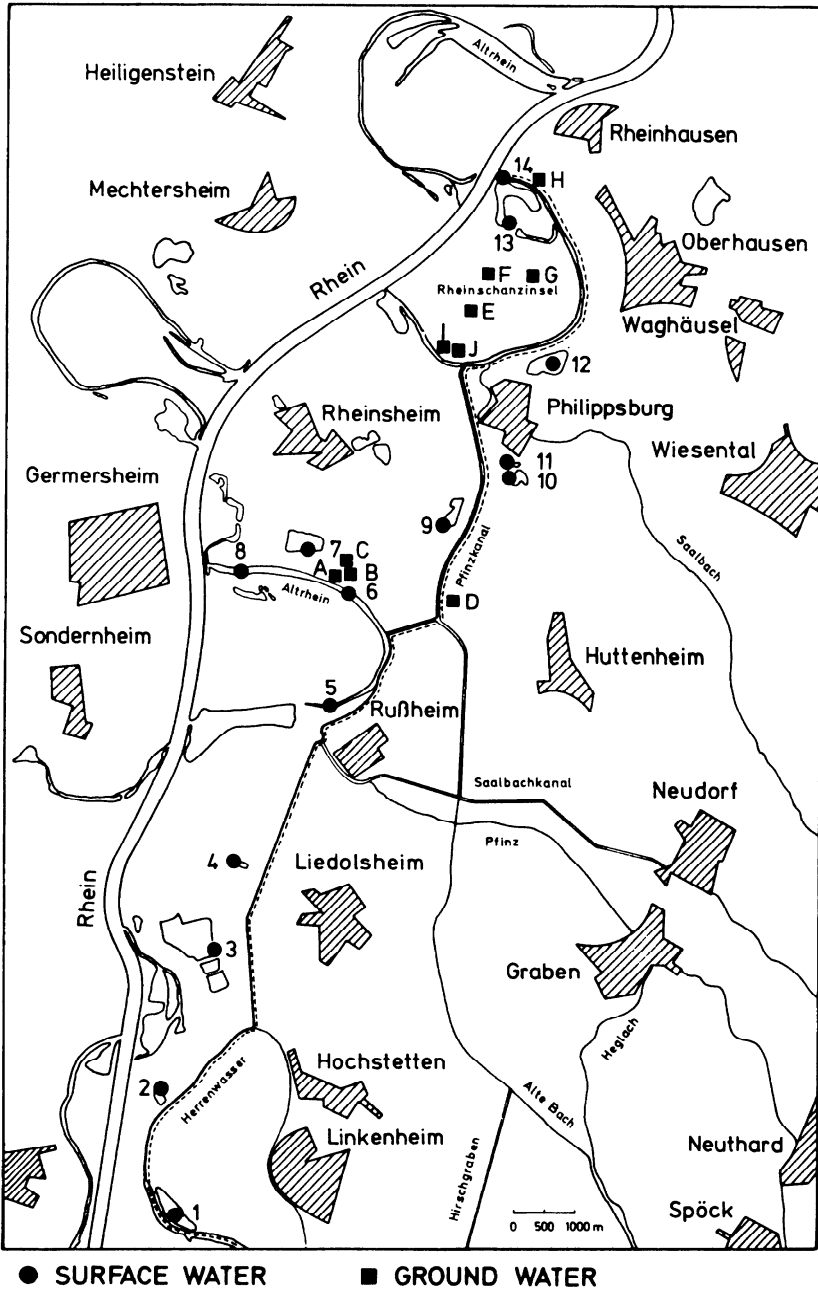


Fig. 3: Plan of Sampling Locations (--- Flow Path of Liquid Effluents)

Sampling Location	Depth of Drilling in m	nCi/l	Bq/l	Date of Sampling
D	unknown	<0.15	<5.6	24.04.1981
	unknown	$0.20 \pm 0.16$	$7.4 \pm 5.9$	24.04.1981
E	35	<0.16	<5.9	24.04.1981
F	15.60	<0.15	<5.6	24.04.1981
G	15.70	<0.15	<5.6	24.04.1981
I	unknown	$29.0 \pm 1.3$	$1073 \pm 48$	31.07.1981
	unknown	$27.0 \pm 1.2$	$999 \pm 44$	10.08.1981
J	unknown	$9.5 \pm 0.5$	$352 \pm 19$	31.07.1981
	unknown	$11.7 \pm 0.6$	$433 \pm 22$	10.08.1981

Table 2: Tritium Concentration in Ground Water (see Fig. 3)

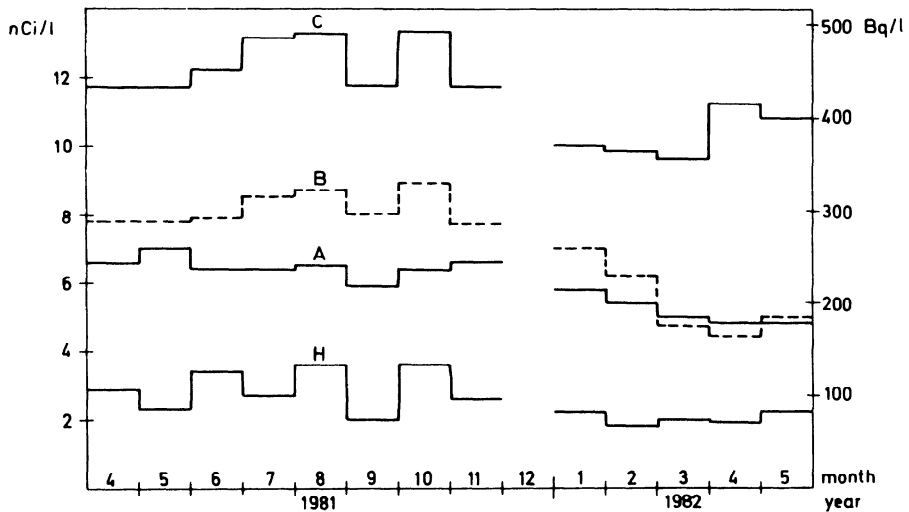


Fig. 4: Tritium Concentration in Drinking Water (Locations A, B, C, H of Fig. 3)

observation wells of the Wasserwirtschaftsamt (Water Management Authority) and assayed for tritium. The locations of 42 of the 50 sampling points and the tritium concentrations measured can be seen from Fig. 5. All measured values were below 1 nCi/l, but in some cases an influence of the tritium discharged by the Nuclear Research Center can be discerned. For comparison the 1981 mean value of the tritium concentration measured in the River Rhine between Öhningen-Stiegen (km 29) and Mannheim (km 426.2) is also indicated [4].

The measured results available for ground water show that realistic radioecological calculations must not only take into account dilution in the main canal, but also dilution by the ground water.

#### 4. Tritium in Biological Matter

In order to study the influence of tritium contamination in independent water supply systems upon biological matter, a number of samples were assayed for tritium. The results are summarized in Tables 3 and 4 [5]. It can be seen that the levels of tritium concentration found in independent water supply systems were not exceeded in any case.

#### 5. Conclusions

According to the measured results available, the radiation exposure of persons living in the lowlands, in whose drinking water increased tritium concentrations had been found, is and continues to be low. Under the assumption of an equilibrium model, a radiation exposure of 0.64 mrem/a and 1.95 mrem/a is obtained, depending on whether the data published by the European Community [6] or data from the German Radiation Protection Ordinance [7] are used as a basis. In view of the small number of persons living in the area concerned, discharging the liquid effluents from the Karlsruhe Nuclear Research Center into the "Altrhein" does not sizably increase the cumulative collective dose, which is calculated by taking into account

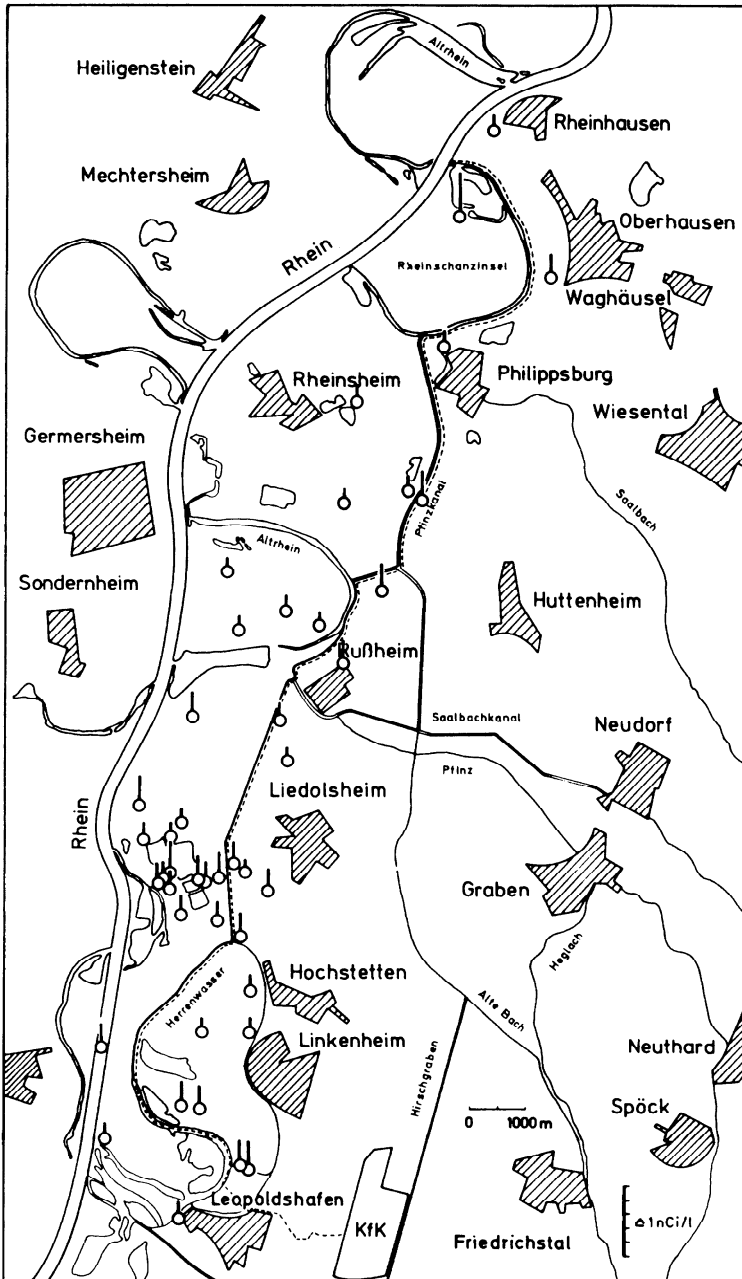


Fig. 5: Tritium Concentration in Ground Water



Sampling Date 1981		Loca- tion	Material Sampled	Tritium Concentration			
				Free Water		Oxidation Water from dry Substance	
				pCi/ml	mBq/ml	pCi/ml	mBq/ml
12.08.	A	green-fodder	0.48 ±0.16	18 ± 6	1.36 ±0.22	50 ± 8	
12.08.	A	milk	3.46 ±0.26	128 ±10	2.67 ±0.28	99 ±10	
14.09.	A	green-fodder	0.32 ±0.17	12 ± 6	0.51 ±0.18	19 ± 7	
14.09.	A	milk	4.26 ±0.32	158 ±12	3.09 ±0.27	114 ±10	
14.09.	A	urine of cows	3.95 ±0.27	146 ±10	-	-	
09.10.	A	green-fodder	0.65 ±0.20	24 ± 7	0.87 ±0.21	32 ± 8	
09.10.	A	milk	2.84 ±0.26	105 ±10	2.38 ±0.26	88 ±10	
09.10.	A	urine of cows	2.78 ±0.28	103 ±10	-	-	
12.08.	B	liquid manure of pigs	6.92 ±0.39	256 ±14	-	-	
14.09.	B	urine of pigs	6.05 ±0.36	224 ±13	-	-	
09.10.	B	urine of pigs	8.51 ±0.50	315 ±19	-	-	
14.09.	C	urine of pigs	6.78 ±0.39	251 ±14	-	-	
09.10.	C	urine of pigs	4.18 ±0.33	155 ±12	-	-	

Table 3: Tritium Concentration in Samples from Farms

Sampling Date Loca- 1981 tion		Vegetables	Water Con- tents %	Tritium Concentration			
				Free Water		Oxidation Water from Dry Substance	
				pCi/ml	mBq/ml	pCi/ml	mBq/ml
12.08.	A	potatoes, tubers	77	0.25 ±0.15	9 ± 6	0.63 ±0.15	23 ± 6
12.08.	A	potatoes, leaves	90	0.22 ±0.14	8 ± 5	3.06 ±0.32	113 ±12
12.08.	A	carrots	85	0.74 ±0.16	27 ± 6	1.12 ±0.17	41 ± 6
12.08.	A	carrots, leaves	82	0.66 ±0.16	24 ± 6	0.94 ±0.31	35 ±12
12.08.	A	savoy	86	0.31 ±0.14	12 ± 5	0.75 ±0.18	24 ± 6
14.09.	A	savoy	86	0.46 ±0.19	17 ± 7	1.11 ±0.22	41 ± 8
14.09.	A	red cabbage	89	0.38 ±0.19	14 ± 7	0.68 ±0.20	25 ± 7
12.08.	B	tomatoes	90	1.27 ±0.21	47 ± 8	3.63 ±0.37	134 ±14
12.08.	B	carrots	90	1.31 ±0.19	49 ± 7	1.39 ±0.20	51 ± 7
12.08.	B	carrots, leaves	82	1.37 ±0.22	51 ± 8	1.21 ±0.17	45 ± 6
12.08.	B	beans, fruits	87	0.70 ±0.19	26 ± 7	1.88 ±0.31	70 ±12
12.08.	C	cucumbers	92	0.68 ±0.19	25 ± 7	0.75 ±0.16	28 ± 6

Table 4: Tritium Concentration in Vegetables

the whole population living along the River Rhine, whose drinking water contains tritium.

This work is sponsored by the Federal Ministry of the Interior (St.Sch. 800).

## 6. References

- [1] Pimpl, M., Schüttelkopf, H.,  
"Die Messung der Abwasserverdünnung im Altrhein mit der Tritiumemission des Kernforschungszentrums Karlsruhe",  
KfK-3073 (1980)
- [2] Kiefer, H., Koelzer, W., König, L.A., (ed.),  
"Jahresbericht 1981 der Hauptabteilung Sicherheit",  
KfK-3272 (1982)
- [3] König, L.A., Langguth, K.-G., Papadopoulos, D., Schartz, R.,  
Contribution to [2], p. 150
- [4] Langguth, K.-G., König, L.A., Papadopoulos, D., Schartz, R.,  
Contribution to [2], p. 141
- [5] Strack, S.,  
Contribution to [2], p. 159
- [6] 80/836/Euratom:  
Richtlinie des Rates vom 15. Juli 1980 zur Änderung der Richtlinien, mit denen die Grundnormen für den Gesundheitsschutz der Bevölkerung und der Arbeitskräfte gegen die Gefahren ionisierender Strahlungen festgelegt wurden,  
Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften, 23. L 246,  
(1980)
- [7] Verordnung über den Schutz vor Schäden durch ionisierende Strahlen, Bundesgesetzblatt, Teil I, 125 (1976), p. 2905

RESUME.

Les effluents liquides traités sont déchargés par le Centre de Recherche Nucléaire dans un conduit long de 2,9 km débouchant dans un bras de l'Altrhein servant de canal principal. Mélangés à l'eau de surface, les effluents liquides coulent dans le canal principal sur une distance de 23,6 km avant d'atteindre le Rhin. Les effluents liquides passant dans le canal principal contaminent les eaux de surface du voisinage par l'intermédiaire de l'eau de la nappe ainsi que des alimentations indépendantes en eau potable de quelques fermes et, par conséquent, aussi les produits agricoles.

SAMENVATTING.

De behandelde vloeibare effluenten worden door het Studiecentrum voor Kernenergie geloosd in een 2,9 km lange leiding die uitmondt in een arm van de oude Rijn die als belangrijkste afvoerkanaal fungeert. Gemengd met het water verplaatsen deze vloeibare effluenten zich over een afstand van 23,6 km voor zij de Rijn bereiken. De vloeibare effluenten aanwezig in dit afvoerkanaal besmetten het omgevend oppervlakte water langs het grondwater evenals enkele onafhankelijke drinkwater voorzieningen van enkele boerderijen en hun landbouwprodukten.

ZUSAMMENFASSUNG.

Aus dem Kernforschungszentrum abgeleitete dekontaminierte Abwässer werden über einen 2,9 km langen Rohrkanal in einen als Vorfluter dienenden Altrheinarm eingeleitet, ehe sie über eine Distanz von 23,6 km gemischt mit Oberflächenwasser den Rhein erreichen. Über das Grundwasser gelangt Tritium aus dem durchflossenen Vorfluter in benachbarte Oberflächengewässer sowie in das Trinkwasser in Eigenwasserversorgungen einiger Bauernhöfe und somit auch in landwirtschaftliche Produkte.

Annales de l'Association Belge de Radioprotection, vol. 7, n° 3-4 (1982).

BEHAVIOUR OF TRITIUM IN THE WATER POOL AND ORGANIC POOL OF THE  
LEAVES OF A BEECH TREE

- First Results of a Long Term Investigation\* -

S. Strack

Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH  
Hauptabteilung Sicherheit/Radioökologie

Abstract

For the determination of the environmental impact by tritium only steady-state models are available. However, concentrations measured of organically bound tritium (OBT) in environmental samples can only be explained with the help of dynamic models. Since 1981 the dynamic behaviour of tritium in the leaves of a beech (*Fagus sylvatica*) has been observed at the Karlsruhe Nuclear Research Center continuously. The tritium concentrations in the free water (HTO) show a well defined dynamic, which is obviously influenced by the considerable variations of the HTO concentrations in the humidity of the air. However, an influence of the soil water can also be observed. The OBT concentrations started with a value of 1.40 pCi/ml in the buds and increased gradually up to 4.60 pCi/ml at the end of the 1981 vegetation period. A mathematical model is being elaborated.

1. Introduction

At the Radioecology Department of the Karlsruhe Nuclear Research Centre a great number of organic samples taken in the vicinity of the Centre have been analysed for tritium in the free water pool (HTO) and in the organic pool of the dry matter (OBT) since 1980. With only some exceptions a higher OBT concentration (expressed in ml of oxidation water) than in the free water, available by freeze drying, has been observed in all samples - milk, vegetables, fruits, leaves, pine needles, etc. [1, 2].

---

\*Work supported by the Federal Ministry of the Interior  
(St. Sch. 800)

This confirms well the measurements of environmental samples made in other laboratories [3]. To assess the impact of tritium only models based on radio-ecological equilibrium conditions are available at the moment [4]. However, the enhanced OBT concentrations in plants can only be explained with the help of dynamic models, because an accumulation by isotopic effects is not probable; on the contrary, a discrimination by the photosynthetic incorporation of HTO into the organic matter of plants has to be taken into account [5]. In view of the large tritium inventories of reprocessing plants and fusion reactors, modelling of the behaviour of OBT is of fundamental significance for the future. Therefore, in 1981 our investigation of environmental samples, which mostly give only a "momentary picture" of the situation in a plant, was extended by a systematic long-term investigation of HTO and OBT in one plant. In order to have enough material for the low-level measurements to be performed under realistic conditions within a whole vegetation period a beech tree

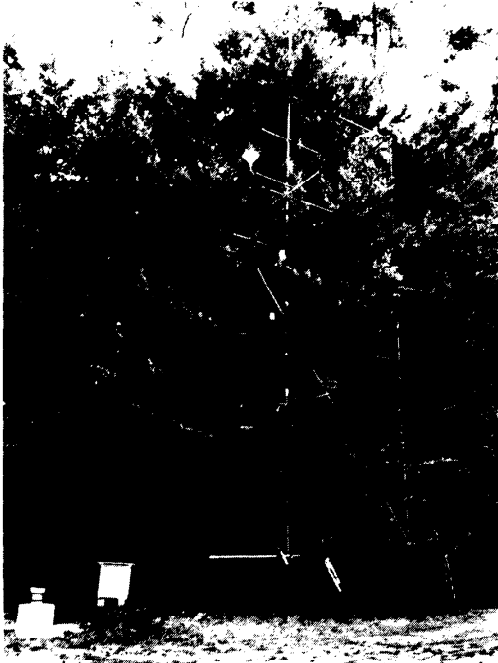


Fig. 1:

The tree  
(*Fagus sylvatica*),  
used for the long-  
term experiment, at  
the Karlsruhe Nuclear  
Research Centre.

was chosen for our investigations as an element of an ecosystem. Besides the HTO and OBT concentrations in the leaves all tritium concentrations in the immediate surrounding, i. e., in the humidity of the air, in the precipitations and in the soil water, are determined. Furthermore, all relevant climatologic parameters and specific plant-physiological parameters, e. g. growth of the leaves, sap flow, are determined.

## 2. Methods

The beech tree (*Fagus sylvatica*), about 50 years old, is situated at the edge of a small wooden area within the Centre. Samples from the tree - about 300 leaves (= 100 g fresh weight) - were generally taken twice a week. Except for the investigation of the daily changes of HTO and OBT, the samples were taken in the morning at sunrise. At this time the sap flow has not yet started and has been zero for several hours. Furthermore, the stomatal resistance at that time is still high, implying that the vapour exchange with the atmosphere has also been at a minimum for several hours. Regarding the OBT there is no photosynthesis at that time, and the leaves are free from temporarily stored carbohydrates, synthesised the day before.

The leaves are freeze-dried and plasma-ashed as described earlier [6]. Tritium in the oxidation water and in the free water as well as in all aqueous samples is measured after distillation in a liquid-scintillation spectrometer (counting time 100 min, volume 10 ml).

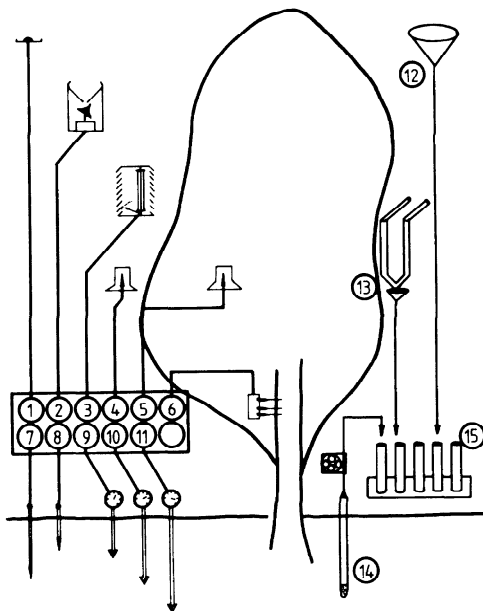
The humidity of the air is continuously collected by freezing the air moisture at a chilled U-tube, automatically heating after a period of 1 to 3 hours, and collecting each sample of condensate in a fraction collector. The soil water is obtained by taking earth columns of 1 m length and by extraction of the water by azeotropic distillation or by

lyophilisation. This year continuous sampling of soil water with a porous clay tube has been provided for.

Climatologic data, as air temperature, humidity of the air, light, and the amount of precipitations were taken from measurements performed by our Meteorological Department at at distance of about 2 km from the beech tree. This year the measurements have been done in the immediate surrounding of the tree to take into account also microclimatic influences. This year we have also started to measure the air temperature in the canopy, the soil water suction at -30, -60, and -100 cm by using tensiometers, and the soil temperature in -10 and -30 cm. All these data were recorded automatically in a data-logger and periodically transferred into a computer system

Fig. 2:

Automatic sampling and recording of climatologic data:  
 (1) light; (2) amount of precipitation;  
 (3) rel. humidity of the air;  
 (4) temperature in the ambient air and  
 (5) in the canopy;  
 (6) sap flow in the stem; (7) soil  
 temperature at -30 cm and (8) at -10 cm;  
 (9) soil water suction at -30 cm,  
 (10) at -60 cm and (11) at -100 cm;  
 (12) sampling of precipitation;  
 (13) sampling of air moisture;  
 (14) sampling of soil moisture;  
 (15) fraction collector





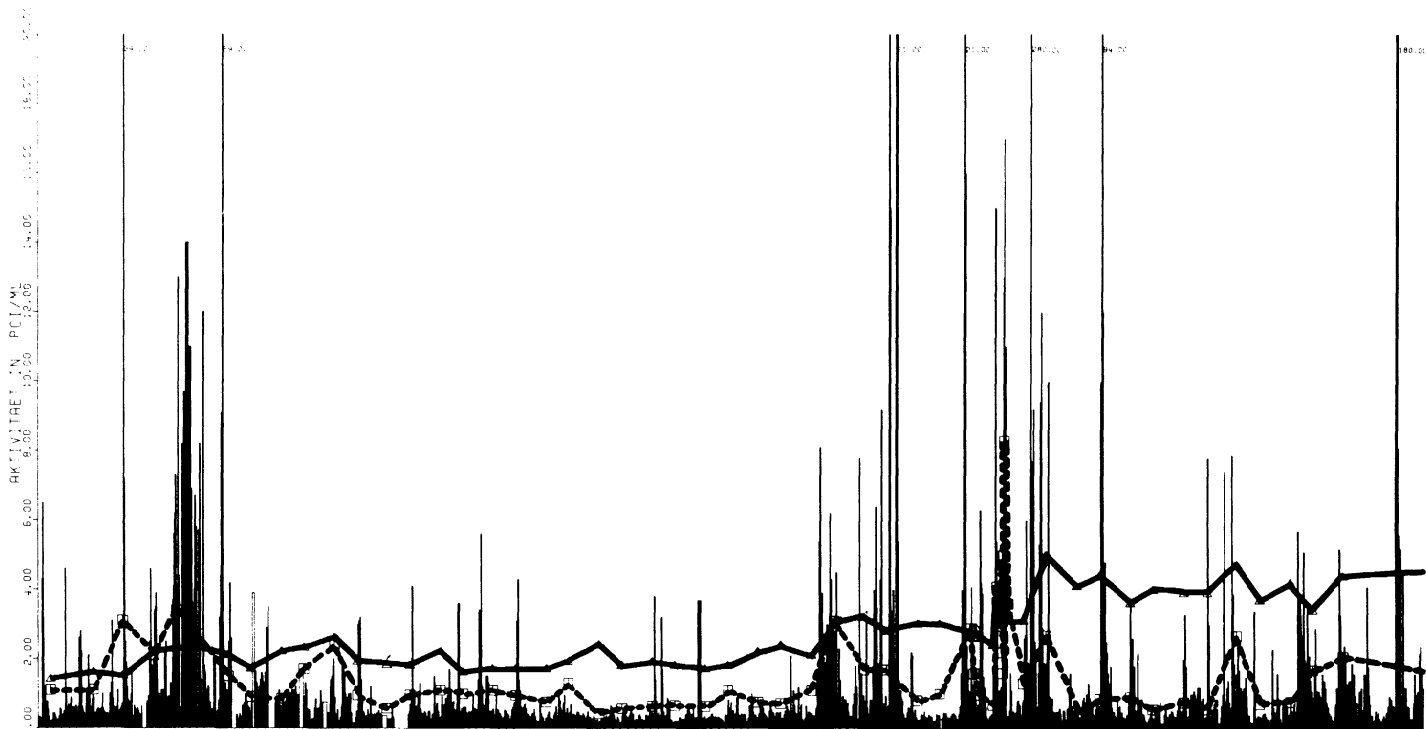


Fig. 3: Measured tritium concentrations in the 1981 vegetation period, May 5, to Nov. 10, 1981 (187 days), (humidity of air = black bars, HTO in the leaves, connected with a dotted line, OBT in the leaves, connected with a solid line).

from which all these data together with the tritium measurements can be used for plots as well as for modelling calculations.

Growth curves of the leaves have been determined by measuring the leaf area and by weighing, and drying at 105 °C.

The whole leaf area of the tree (455 m<sup>2</sup>) has been determined by counting the leaves in a counting/estimating procedure and multiplying by the average area of one leaf. The whole number of all leaves has been determined to be about 200,000. This year we also started to measure the sap flow by the heat-pulse method using a commercially available sap flow meter. This gives us the daily courses of water transport from the soil into the leaves, which equal the amounts of transpiration.

### 3. Results

#### 3.1 HTO in air and in soil

In fig. 3 all tritium concentrations measured in the humidity of the air, and of HTO and OBT present in the leaves during the 1981 vegetation period are indicated. The figure shows the considerable variations of tritium concentrations in the humidity of the air, with three periods of significantly enhanced concentrations at the end of May, at the end of August, and at the beginning of September, respectively. These concentrations are mainly caused by releases from a heavy-water moderated reactor located at the Centre. Five times very high concentrations were measured; they exceeded 30 pCi/ml, with a maximum of 280 pCi/ml in mid-September. Several concentrations were in the range of 2 to 20 pCi/ml, and most of the concentrations measured were below 1 pCi/ml. The minimum concentration was 0.4 pCi/ml. The detection limit of our measurements is 0.12 pCi/ml.

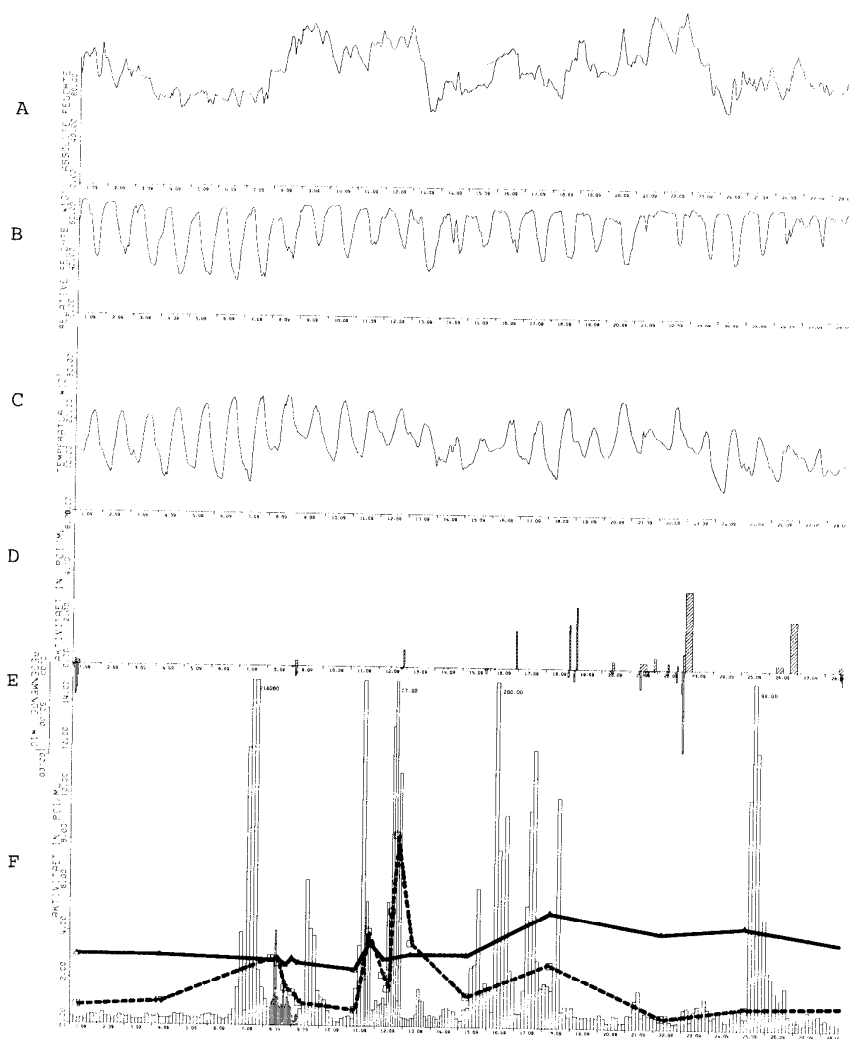


Fig. 4: Segment of the computer plot of the tritium concentrations and of meteorological data; Sept. 1, to 29. From top to bottom: (A) abs. air humidity ( $1/10 \text{ g m}^{-3}$ ); (B) rel. air humidity (%); (C) air temperature ( $^{\circ}\text{C}$ ); (D) tritium conc. in precipitation ( $\text{pCi ml}^{-1}$ ); (E) amount of precipitation (mm); (F) tritium conc. in air humidity, in HTO (---) and in OBT (—) of the leaves ( $\text{pCi ml}^{-1}$ ).

The tritium concentrations in the soil moisture in the upper layer of 1 m thickness, which is considered to be almost identical with the root zone, was determined 3 times in 1981. The concentrations measured were relatively constant at a level of 2 pCi/ml.

### 3.2 HTO and OBT in the leaves

The HTO concentrations in the leaves show a well defined dynamic. In fig. 3 the HTO measurement values in the leaves are connected with a dotted line; however, it has to be kept in mind that this curve does not represent all the fluctuations of the actual HTO concentrations. In a first approximation one can say that they follow the variations of the activities in the humidity of the air; however, they do not attain an equilibrium with these activities. In periods of low tritium concentrations in the humidity of the air, also a low HTO-value in the leaves is found, but they neither attain equilibrium with the air moisture; an actual concentration can rather be found, which is just between the tritium concentrations of the humidity of the air and of the soil. A first conclusion which can be drawn from these observations is that under our experimental conditions the HTO compartment in the leaves seems to be influenced by the air moisture and soil water at the same rate of variation and the final HTO concentration in the leaves depends only on the time and on the actual tritium concentrations in both sources. However, a detailed analysis of all data will be necessary to verify this conclusion.

The OBT concentrations in the leaves show quite a different dynamic behaviour. The OBT concentrations start at a value of 1.40 pCi/ml in the buds just before the leaves open and develop thus representing the history of tritium incorporation in the previous vegetation period. While the variations are relatively small, there is a gradual increase up to 4.60 pCi/ml at the end of the vegetation period in autumn. The most significant increases can be observed after periods

of enhanced tritium concentrations in air moisture, which can be taken as an indication that this compartment retains tritium of higher HTO concentrations in the leaves - also those which could not be determined under our experimental conditions. In the samples measured with only some exceptions the OBТ compared to HTO in the leaves concentrations are always higher. The greatest ratio between OBТ and HTO has been found with  $R = \text{OBТ}/\text{HTO} = 8.7$ .

#### 4. Compartment model

For the interpretation of the experimental data a mathematical model shall be developed which can be utilized to predict the tritium concentrations in plants under different conditions. Fig. 5 shows a basic model of the system with the main compartments and all relevant flows of tritium.

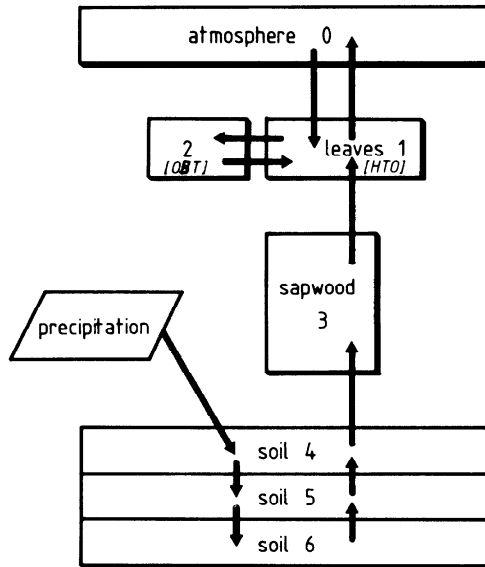


Fig. 5: Block diagramme of the compartment model with the relevant tritium flows.

In a first step the relations of the leaf compartments shall be regarded. In fig. 6 a simplified diagramme is given, using the terms of Forrester [7]. It indicates the state variables within rectagels, sinks and sources within rhombic figures, rates of changes within valve symbols, auxiliary variables within circles. Parameters are underlined. For material flows solid arrows and for information flows dotted arrows are used.

The diagramme is based on the following assumptions:

The concentration of HTO in the leaves  $\langle 1 \rangle$  is affected first by the vapour exchange with the humidity in the atmosphere  $\langle 0 \rangle$ . Driving force for this exchange is a tritium concentration gradient. The rate coefficients  $k_{10}$  and  $k_{01}$  are controlled by the leaf conductance, i. e. the opening and closure of the stomata, expressed as the reciprocal of the leaf resistance  $R^{-1}$ . Since the diffusion in both directions are affected in the same way the rates of change are equal:

$$k_{10} = k_{01} = k_E \quad (1)$$

This most important auxiliary variable is a function of light and air temperature and of the plant moisture stress. If the plant moisture stress increases, while the tree is extracting the water of the soil, the stomata of the leaves are closed until complete closure is reached, and the conductance is that of the diffusion through the cuticle of the leaves [8].

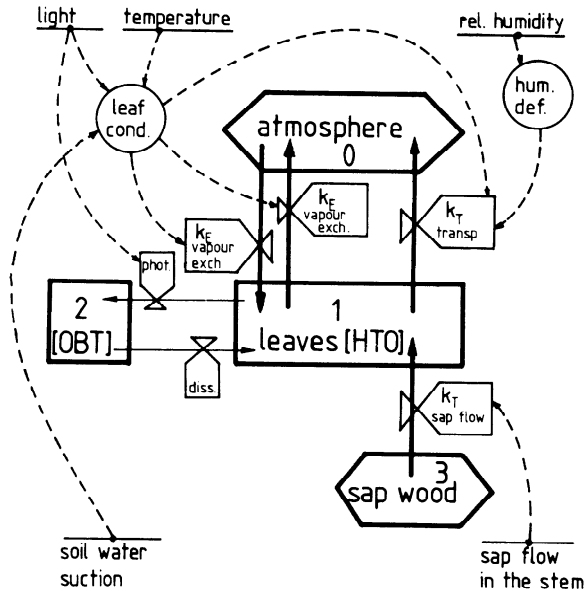


Fig. 6: Relational diagramme of the leaf compartments (see text).

The second tritium flow that affects the HTO in the leaves is the transpiration. The only driving force for transpiration is the humidity deficit in the atmosphere related to the gaseous interior of the leaves, which is assumed to be saturated at ambient temperature (100 % relative air humidity). The rate of transpiration  $k_{10}^T$  is controlled also by the leaf conductance. The third tritium flow is the flux of water from sap wood into the leaves. The rate of sap flow  $k_{31}$  quantitatively equals the transpiration rate  $k_{10}^T$ , if the water content of the leaves is supposed to remain constant.

$$k_{10}^T = k_{31} = k_T \quad (2)$$

In our experiment  $k_T$  will be estimated directly by measurement of the sap flow rate in the stem of the tree.

For the estimation of HTO in the leaves the tritium flow from the water phase into the organic matter can be neglected because of its small amount compared to the other tritium flows.

The behaviour of HTO in the leaf compartment then can be described by the following differential equation:

$$\frac{dA_1}{dt} = k_{01}A_0 - k_{10}A_1 - k_{10}^T A_1 + k_{31}A_3 \quad (3)$$

where  $k_{ij}$  are the flow rate coefficients and  $A_i$  the specific activities. With the suppositions given in eqs. (1) and (2), eq. (3) can be written:

$$\frac{dA_1}{dt} = -(k_E + k_T)A_1 + k_E A_0 + k_T A_3 \quad (4)$$

Considering that  $k_E$  and  $k_T$  are functions of the leaf conductance and the humidity deficit, this equation can be used for a numerical solution.

To get an idea of which direction the solution takes, it will be attempted to find an analytical solution by making some simplifications. If the specific activities in the atmosphere  $A_0$  and in the sap wood  $A_3$  are taken as constant, eq. (4) can be transformed into the integrated form:

for  $A_0 = \text{const.}$  and  $A_3 = \text{const.}$

$$A_1 = {}_0A_1 e^{-(k_E + k_T)t} + \frac{k_E A_0 + k_T A_3}{k_E + k_T} \left[ 1 - e^{-(k_E + k_T)t} \right] \quad (5)$$



If time is going towards infinity, the following term remains:

for  $t \rightarrow \infty$

$$A_1 = \frac{k_E A_0 + k_T A_3}{k_E + k_T} \quad (6)$$

According to that term and if the vapour exchange were much more rapid than the transpiration, the tritium concentration  $A_1$  in the leaves would tend to reach the tritium concentration in the atmosphere; by contrast, if the transpiration were much more rapid the sap wood concentration would be approached. The third possibility is that the affection of  $A_1$  by vapour exchange and transpiration is in the same range.

Then for  $k_E = k_T$ :

$$A_1 = \frac{A_0 + A_3}{2}$$

In this case the specific activity in the leaves will approach the arithmetic mean of the concentrations of both sources, if the time is sufficiently long. In fact, this seems to describe the situation rather well, as shown above. In periods of equilibrated tritium concentrations the resulting  $A_1$  lay between  $A_0$  and  $A_3$ . In periods of rather enhanced concentrations in the atmosphere  $A_1$  will follow these concentrations and the influence of the sap flow with its relatively low concentration cannot be recognized. In this situation the model agrees very well with that of Belot et al. [9] and with the experimental findings of Garland and Cox [10].

Although it is necessary to validate this conclusion by detailed analysis of all data, it can be stated that for modelling the behaviour of HTO in the leaves under realistic environmental conditions equal importance must be attached to the influence of the vapour exchange with the atmosphere and the influence of the sap flow.

#### Acknowledgements

Work was supported by the Federal Ministry of the Interior (St.Sch. 800). The author is grateful to Mrs. Dipl.-Ing. (FH) S. Schulte and Mr. G. Pagliosa for their assistance in the experimental work, to Dipl.-Met. K. Nester for discussing mathematics of the model, to Dr. W. Hübschmann whose department has kindly provided part of the meteorological data.

#### 5. References

- [1] "Jahresbericht 1980 der Hauptabteilung Sicherheit"  
Kiefer, H., Koelzer, W., König L.A. (ed.)  
KfK-3113 (1981) 151-153
- [2] "Jahresbericht 1981 der Hauptabteilung Sicherheit"  
Kiefer, H., Koelzer, W., König, L.A. (ed.)  
KfK-3272 (1982) 159-164
- [3] Bogen, D.C., Welford, G.A., Health Phys. 30 (1979)  
203-208
- [4] Vogt, K.J. in: Proc. IAEA Sympl., San Francisco,  
16.-20. Oct. 1978, IAEA, Vienna (1979) 521-534
- [5] Strack, S., Biokinetische Untersuchungen über organisch  
gebundenes Tritium in Algenkulturen, Reimer, Berlin (1978)
- [6] Strack, S., König, L.A., KfK-3249 (1981)
- [7] Forrester J.W., Industrial Dynamics, MIT-press, Boston  
(1961)

- [8] Running, S.W., Waring, R.H., Rydell, R.A., *Oecologia* (Berl.) 18 (1975) 1-16
- [9] Belot, Y., Gauthier, D., Caums, H., Caput, C., *Health Phys.* 37 (1979) 575-583
- [10] Garland, J.A., Cox, L.C., *Water, Air, and Soil Pollution* 17 (1982) 207-212

RESUME.

Pour la détermination de l'impact du tritium sur l'environnement seuls des modèles d'équilibre sont disponibles. Cependant, les concentrations en tritium lié organiquement (OBT) mesurées dans les échantillons de l'environnement peuvent seulement être expliquées à l'aide de modèles dynamiques. Depuis 1981, le comportement dynamique dans les feuilles de hêtre ( *Fagus sylvatica* ) a été observé d'une façon continue au Centre de Recherche Nucléaire de Karlsruhe. Les concentrations en tritium de l'eau libre (HTO) montrent une dynamique bien définie, qui est influencée d'une façon évidente par les variations considérables des concentrations en HTO de l'humidité de l'air. Cependant, une influence de l'eau du sol peut aussi être observée. Les concentrations en OBT débutent à une valeur de 1,4 pCi/ml dans les bourgeons et augmentent progressivement jusque 4,6 pCi/ml à la fin de la période de végétation, en 1981. Un modèle mathématique est en cours d'élaboration.

SAMENVATTING.

Voor de evaluatie van de invloed van tritium op het milieu zijn enkel steady state modellen beschikbaar. De concentratie voor het organisch gebonden tritium (OBT) waargenomen in het milieu kunnen enkel verklaard worden door dynamische modellen. Sinds 1981 werd op het Studiecentrum voor Kernenergie te Karlsruhe het dynamische gedrag van tritium voortdurend gevolgd in de bladeren van een boom ( *Fagus sylvatica* ). De tritium concentraties waargenomen in het weffselwater (HTO) vertonen een wel bepaald dynamisch gedrag, sterk beïnvloed door de aanzienlijke veranderingen in de luchtvochtigheid ; daarenboven kan een invloed van het grondwater eveneens worden aangetoond. De OBT concentraties starten met een waarde van 1,40 pCi/ml in de knopen en stegen geleidelijk naar 4,6 pCi/ml op het einde van de vegetatieperiode in 1981. Een matematisch model is in voorbereiding.

ZUSAMMENFASSUNG.

Zur Abschätzung der Auswirkungen von Tritium auf die Umwelt stehen z. Z. nur steady-state-Modelle zur Verfügung. Die gemessenen Konzentrationen an organisch gebundenem Tritium (OBT) in Umweltproben lassen sich jedoch nur mit Hilfe von dynamischen Modellen erklären. Seit 1981 wird das dynamische Verhalten von Tritium in den Blättern einer Rotbuche im Kernforschungszentrum Karlsruhe kontinuierlich verfolgt. Eine ausgeprägte Dynamik zeigen die Tritiumkonzentrationen im freien Wasser (HTO), die offensichtlich unter dem Einfluß der beträchtlichen Schwankungen der HTO-Konzentrationen in der Luftfeuchtigkeit stehen. Allerdings kann der Einfluß des Bodenswassers ebenfalls beobachtet werden.

Die OBT-Konzentrationen beginnen mit einem Wert von 1,40 pCi/ml in den Knospen und steigen stufenweise bis auf 4,60 pCi/ml zum Ende der Vegetationsperiode 1981 an. Ein mathematisches Modell zur Interpretation der Ergebnisse wird erarbeitet.

Annales de l'Association Belge de Radioprotection, vol. 7, n° 3-4 (1982).

## BILAN DE RECHERCHES EXPERIMENTALES SUR LE TRANSFERT DE L'EAU TRITIÉE AUX VEGETAUX CULTIVES.

Kirchmann, R., Fagniat, E.

Département de Radiobiologie, CEN/SCK, 2400 Mol (Belgique).

### Résumé.

Une vue d'ensemble des expériences réalisées au CEN depuis 1968 dans le cadre d'études sur le transfert du tritium dans les chaînes alimentaires terrestres est présentée.

Les expériences ont été variées et les modes d'exposition des végétaux furent :

- a) absorption racinaire du tritium à partir d'un sol irrigué ;
- b) absorption foliaire du tritium à partir d'une aspersion d'eau tritiée ;
- c) certaines parties aériennes des végétaux furent exposées à la vapeur d'eau tritiée, en conditions contrôlées.

En général, les activités appliquées étaient d'environ quelques  $\text{mCi/m}^2$  excepté dans les expériences d'irrigation, dont le but était de produire du fourrage, afin d'étudier le transfert à l'animal, dans ce cas les activités appliquées étaient de quelques centaines de  $\text{mCi/m}^2$ .

L'étude du taux de renouvellement de tritium dans le compartiment aqueux de la plante indique une incorporation d'une fraction définie du tritium dans les constituants organiques ; les niveaux d'incorporation de tritium sous forme organique (OBT) sont présentés et discutés.

Le comportement du tritium est, de manière générale, qualitativement similaire quels que soient les modes exposition, la majeure partie du tritium étant associé à des temps de résidence de TFWT ( eau tissulaire ) de quelques jours et un faible pourcentage à des temps de résidence plus longs ( 25 à 52 jours ) pouvant être attribuées à la fraction organique (OBT).

### 1. Introduction

Des études expérimentales sur la contamination de la chaîne alimentaire terrestre par le tritium ont été entreprises depuis 1969 à la ferme du département de Radiobiologie, CEN/SCK, à Mol. Ces études ont porté sur le dépôt d'eau tritiée sur les cultures et les pâtures, le transfert du tritium de l'eau d'abreuvement et du fourrage ( foin, poudre de lait, pommes de terre ) aux animaux de ferme ( vaches, chèvres, porcs ) ( 1,2,3,4,5,6,7,8 ). Des études sur le transfert du tritium dans les principaux compartiments du

milieu aquatique recevant des effluents liquides rejetés par des installations nucléaires ont aussi été réalisées ( 9,10,11, 12,13,14,15,16 ), ces études ont été étendues au milieu marin ( 17,18,19,20,21 ).

Au cours de ces dernières années, l'effort de recherche s'est surtout porté sur le comportement métabolique du tritium incorporé dans la matière organique ( 22,23 ), soit à partir d'eau tritiée absorbée par les végétaux ( 24 ) soit à partir de la matière organique tritiée présente dans la ration des animaux ( 25,26,27,28,29 ). La présente communication se limite au premier aspect, à savoir le transfert de l'eau tritiée aux végétaux cultivés ; l'inventaire des expériences de contamination en conditions naturelles réalisées pour la majeure partie à Mol, est donné dans les tableaux 1 et 2.

## 2. Méthodologie

### 2.1. Modes d'application du tritium

La contamination des végétaux par l'eau tritiée peut résulter de différents phénomènes : absorption par voie racinaire de l'eau tritiée se trouvant dans le sol, absorption par voie foliaire d'eau tritiée apportée par les précipitations et la rosée, et enfin les échanges d'eau en phase vapeur entre l'atmosphère et les parties aériennes des plantes. L'importance relative de ces différents mécanismes varie avec les conditions climatiques et les espèces végétales considérées ainsi que les pratiques agricoles. C'est ainsi que dans le cas d'irrigation au sol, la contamination sera indirecte alors que dans celui de l'irrigation par aspersion la voie de contamination sera double : absorption directe par le feuillage et absorption racinaire à partir du sol.

L'examen des tableaux 1 et 2 montre que les trois modes d'application d'eau tritiée ont été utilisés au cours des expériences : l'aspersion, l'irrigation et la vaporisation ; cela a permis de comparer l'influence du mode d'application sur des niveaux de contamination des végétaux traités et d'en tirer des conclusions pratiques sur les plans des conséquences des rejets d'effluents dans l'environnement terrestre et de la voie la plus efficiente pour produire des végétaux tritiés entrant dans la ration alimentaire des animaux domestiques.

TABLEAU 1.  
Exposition des végétaux à l'eau tritiée.  
A. Exposition unique

Mode	Espèces Végétale	Location	Epoque	Conc. THO ( $\mu\text{Ci}/\text{l}$ )	Act. Déposée ( $\text{mCi}/\text{m}^2$ )
Aspersion	Pâtûre	Mol	Hiver (janvier 1968)	1200	0,45
	idem	Mol	Printemps (1969)	720	0,18
	Pâtûre	Mol	Eté (1969)	920	0,23
	Pâtûre	Mol	Automne (1969)	42	0,017
	Pâtûre	Mol	Août-Septembre (1974)	360	1
	Lolium italicum	Mol	Août-Septembre (1974)	360	1
	Solanum tuberosum	Mol	Août-Septembre (1974)	360	1
	Pisum sativum	Mol	Août-Septembre (1974)	360	1
	Hordeum vulgare	Mol	Août-Septembre (1974)	360	1
	Daucus carota	Mol	Août-Septembre (1974)	360	1
	Beta vulgaris	Mol	Août-Septembre (1974)	360	1
	Pâtûre	Mol	Août (1977)	490	2
	Solanum tuberosum	Mol	Août (1977)	490	2
	Pisum sativum	Mol	Août (1977)	490	2
	Daucus carota	Mol	Août (1977)	490	2
	Beta vulgaris	Mol	Août (1977)	490	2
	Olea europaea	Cadarache	Juin (1975)		1,37 - 1,87
	Vitis vinifera	Cadarache	Juillet (1975)		2,09
	Citrus sinensis	Corse	Février (1975)		0,43
	Phaseolus vulgaris	Mol	Juin (1980)	134	1,33 - 1,55
Solanum tuberosum	Mol	Juin (1980)	134	1,33 - 1,55	
Vapeur	Solanum tuberosum	Mol	Juin (1980)	4 nCi/1 air	20
	Zea mays	Mol	Août (1978)	4 nCi/1 air	20

TABLEAU 2.  
Exposition des végétaux à l'eau tritiée

B. Exposition répétée

Mode	Espèces Végétale	Location	Epoque	Conc. THO ( $\mu\text{Ci}/\text{l}$ )	Act. Déposée ( $\text{mCi}/\text{m}^2$ )
Aspersion	Pâturage	Mol	Janvier-Février (1969)	980	0,12
	Pâturage	Mol	Mai - Juin (1970)	2000	22
	Trifolium pratense	Mol	Juin - Août (1975)	11,4	1,1
	Solanum tuberosum	Mol	Juin - Août (1975)	11,4	1,1
	Pisum sativum	Mol	Juin - Août (1975)	11,4	1,1
	Daucus carota	Mol	Juin - Août (1975)	11,4	1,1
	Beta vulgaris	Mol	Juin - Août (1975)	11,4	1,1
	Hordeum vulgare	Mol	Juin - Août (1975)	11,4	1,1
	Lolium italicum	Mol	Juin - Août (1975)	11,4	1,1
	Zea mays	Mol	Juin - Septembre (1968)	13,9	5,2
Irrigation	Solanum tuberosum	Mol	Juin -Septembre (1975)	500	26,7
	Lolium italicum	Mol	Sept. - Oct. (1979)	10.000	639
	Lolium italicum	Mol	Avril - Mai (1980)	16.700	918
	Lolium italicum	Mol	Juin (1980)	21.300	898
	Lolium italicum	Mol	Juin - Août (1980)	15.300	657
	Lolium italicum	Mol	Juin (1981)	20.000	371
	Lolium italicum	Mol	Juillet (1981)	20.000	543
	Lolium italicum	Mol	Août (1981)	20.000	171
	Solanum tuberosum	Mol	Juin - Juillet (1981)	20.000	1229



L'appareillage utilisé pour appliquer l'eau tritiée va de l'arrosoir au pulvérisateur à moteur en passant par les rampes fixes d'irrigation (Photo 1) quant à la vapeur d'eau tritiée elle a été produite par un générateur.



## 2.2. Echantillonnage

La préoccupation majeure dans tout échantillonnage est sa représentativité du système étudié. En champs d'essais la source d'erreur habituelle est l'effet de bord de la parcelle dû à des gradients d'exposition ou de croissance des végétaux testés, il faut donc prévoir des parcelles de dimensions suffisantes ( photo 2 ).



Le sol a été prélevé par carottage et des échantillons composites du profil ont été constitués en vue de l'analyse.

La vapeur d'eau tritiée présente dans l'air après application d'eau tritiée ou de vapeur est collectée en utilisant des pièges métalliques remplis d'un mélange de neige carbonique et d'acétone.

Dès que la récolte ou le prélèvement d'un échantillon est achevé il faut veiller à l'isoler immédiatement de l'air ambiant en le plaçant si possible dans des flacons de verre sinon dans des sacs plastiques à parois doubles afin de limiter les échanges.

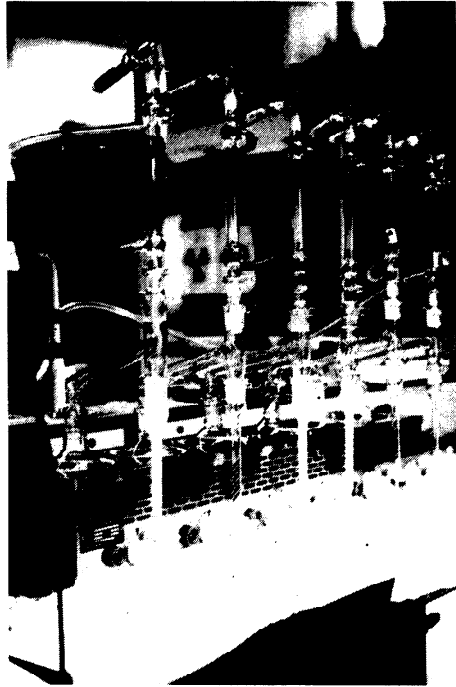
Dès retour au laboratoire, les échantillons sont conservés si possible au surgélateur sinon en chambre froide en attendant l'analyse.

### 2.3. Mesures

Le procédé général d'extraction de l'eau tissulaire (TFWT) utilisé dans notre laboratoire est la distillation azéotropique (toluène) dans un appareil prévu pour empêcher les échanges avec la vapeur d'eau atmosphérique (photo 3).

Le séchage de la matière fraîche s'opère à l'étuve à vide (60°C) puis est achevé à l'étuve ordinaire à 100°C juste avant passage dans l'appareil à combustion, sous courant d'oxygène, à 900°C ; l'eau de combustion est piégée (neige carbonique et acétone) puis entraînée par un volume connu de mélange scintillant. Cette fraction correspond au tritium lié organiquement dans le végétal (OBT).

Les fioles contenant l'eau tritiée et le mélange scintillant sont mesurées



à l'aide d'un spectromètre bêta commercial.

Le résultat final est obtenu après application des facteurs de correction habituels ( rendement, extinction etc ).

### 3. Résultats et discussion

#### 3.1. Contamination des végétaux après un dépôt unique d'eau tritiée par aspersion.

La répartition en pourcentage du tritium présent dans les végétaux récoltés le lendemain du dépôt d'eau tritiée est montrée dans le tableau 3. L'examen de ce tableau indique que le taux d'incorporation est de quelques pour-cent. Ce même tableau 3 indique la répartition du tritium dans les végétaux au moment de la récolte, laquelle a été effectuée à des temps variant de 49 à 85 jours après le dépôt unique. Les résultats obtenus à ce moment contrastent avec ceux du jour suivant le dépôt : le pourcentage de répartition du tritium dans la matière organique ( OBT ) est augmentée de façon remarquable , par rapport à l'eau tissulaire ( TFWT ), dans tous les végétaux traités.

En effet d'une façon générale, on constate que le tritium, présent sous forme d'eau dans la partie aérienne du végétal traité, s'élimine plus rapidement que le tritium incorporé dans la matière sèche. Un exemple de l'évolution des teneurs au cours du temps de ces deux formes de tritium est donné dans la figure 1. Les temps moyens de résidence observés dans les expériences menées à Mol sont repris dans le tableau 4 pour quelques végétaux communs dans nos régions.

On remarque qu'après un dépôt en été le tritium présent sous forme d'eau dans l'herbe ( TFWT ) s'élimine environ cinq fois plus vite qu'après un dépôt hivernal, phénomène à mettre en rapport avec le taux d'évapotranspiration dont l'influence a été par ailleurs mise clairement en évidence lors d'expériences menées en parallèle à Mol et à Cadarache sur des mêmes espèces végétales.

On a aussi observé une bonne corrélation entre, d'une part la teneur en tritium de l'eau du sol superficiel ( 0 - 10 cm ) et, d'autre part, les teneurs en tritium de l'eau tissulaire ( TFWT ) de la partie aériennes des pommes de terre, pois, betteraves et carottes ainsi que de la racine des carottes. Par contre, aucune relation significative n'a été trouvée entre d'une part les teneurs en tritium de l'eau des tubercules de pommes de

TABLEAU 3.

Répartition (%) du tritium entre l'eau tissulaire (TFWT) et la matière organique (OBT) des végétaux ayant reçu un dépôt d'eau tritiée par aspersion.

Végétal	Organe	Age (jours)	1 jour après dépôt		au moment de la récolte		Temps écoulé depuis le dépôt (jours)
			TFWT (%)	OBT (%)	TFWT (%)	OBT (%)	
Pâture	feuillage	25	98,3	1,7	32,1	67,9	85
Ray-grass	feuillage	62	98,4	1,6	34,6	65,4	53
Pomme de terre	feuillage	63	99,5	0,5	1,8	98,2	65
	racines		98,9	1,1	75,7	24,3	
	tubercules		96,2	3,8	85,6	14,4	
Pois	feuillage	42	98,7	1,3	73,1	26,9	52
	racines		98,8	1,2	-	-	
	grains				5,2	94,8	
Orge	feuillage	63	98,8	1,2	45,2	54,8	49
	racines		99,4	0,6	51,4	48,6	
	grains				11,2	88,8	
Carottes	feuillage	83	98,9	1,1	3,3	96,7	81
	racines		99,0	1,0	48,2	51,8	
Betteraves sucrières	feuillage	102	99,4	0,6	91,6	8,4	65
	racines		98,8	1,2	53,7	46,3	

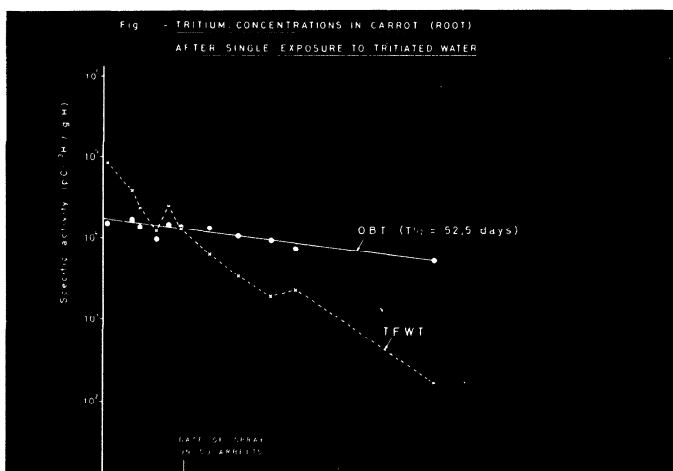


Fig. 1.

TABLEAU 4.

Temps moyens de résidence (jours) après une exposition unique de diverses espèces végétales par aspersion d'eau tritiée.

Cultures	Temps moyen de résidence (jours)		Remarques
	TFWT	OBT	
Ray-grass	1	45	été
Pâturage	5	30	hiver
Pommes de terre tubercules		45	
feuillage	3		
Pois feuillage		25	
Orge feuillage		38	
Carottes racines		52	
Betterave racines		38	

terre, des racines de betteraves et des grains de pois et d'autre part les teneurs en tritium de l'eau du sol.

### 3.2. Contamination des végétaux après un dépôt répété d'eau tritiée.

Des expériences d'exposition répétée, par aspersion d'eau tritiée, de végétaux au cours de leur croissance ont fourni des résultats sur l'incorporation dans la matière organique qui sont résumés dans le tableau 5 où figurent à titre de comparaison les résultats obtenus sur les mêmes espèces végétales exposées de façon unique l'année précédente ou antérieurement.

L'examen de ce tableau permet de dégager quelques constatations de caractère général :

- l'activité spécifique de la matière organique ( OBT ) est du même ordre de grandeur, pour un dépôt unitaire (  $1 \text{ mCi THO/m}^2$  ), que le dépôt soit unique ou répété et quelle que soit l'activité spécifique de l'eau tritiée déposée ( gamme de concentration variant de 1 à 100 ) ;
- l'activité spécifique de la matière organique des divers végétaux ayant été traités par dépôt répété est remarquablement constante ;
- le rapport des activités spécifiques ( OBT/THO déposée ) est de 3 ordres de grandeur plus faible après dépôt unique alors qu'il n'est que de 2 ordres de grandeur après un dépôt répété.

### 3.3. Influence du mode d'application de l'eau tritiée sur le niveau de contamination du tubercule de pomme de terre.

Les niveaux de contamination des tubercules de pomme de terre dont les plants ont été exposés à l'oxyde de tritium sous forme d'eau ou de vapeur à raison de  $1 \text{ mCi } ^3\text{H/m}^2$  de sol sont mentionnés dans le tableau 6.

L'examen de ce tableau permet de constater que les teneurs en tritium de l'eau tissulaire du tubercule ( TFWT ) sont très voisines après une aspersion unique ou après irrigation répétée, le dernier dépôt ayant eu lieu environ 2 mois avant la récolte. Lorsque le dernier dépôt a eu lieu moins de temps avant la récolte ( 1 mois ), la teneur du TFWT est évidemment plus élevée. Par contre la teneur en OBT, après un dépôt d'eau tritiée de  $1 \text{ mCi } ^3\text{H/m}^2$  est pratiquement non influencé par le mode d'application de cette eau

TABLEAU 5.

Activité spécifique de la matière organique de végétaux traités soit par aspersion unique soit par aspersion répétée d'eau tritiée ; dépôt total normalisé à  $1 \text{ mCi}^3\text{H}/\text{m}^2$  de sol.

Végétaux	Organes	Dépôt unique		Dépôt répété	
		OBT (nCi $^3\text{H}/\text{gH}$ )	A.S.OBT A.S.eau d'aspersion	OBT (nCi $^3\text{H}/\text{gH}$ )	A.S. OBT A.S.eau d'aspersion
Pâturage	feuillage	30,7	$1,0 \times 10^{-3}$ a)	12,3	$1,5 \times 10^{-2}$ c)
	feuillage	5,50	$2,0 \times 10^{-3}$ b)		
Ray-grass	feuillage	8,36	$2,0 \times 10^{-3}$ b)	12,6	$5,1 \times 10^{-2}$ d)
Pomme de terre	tubercule	22,07	$6,0 \times 10^{-3}$ b)	18,6	$7,6 \times 10^{-2}$ d)
Pois	grain	3,95	$1,0 \times 10^{-3}$ b)	17,2	$7,0 \times 10^{-2}$ d)
Orge	grain	17,41	$5,0 \times 10^{-3}$ b)	13,5	$5,5 \times 10^{-2}$ d)
Carotte	racine	5,58	$1,0 \times 10^{-3}$ b)	15,7	$6,4 \times 10^{-2}$ d)
Betterave succrière	racine	7,90	$2,0 \times 10^{-3}$ b)	10,3	$4,2 \times 10^{-2}$ d)

Notes : Activités spécifiques corrigées de l'eau déposée.

Quantités déposées par aspersion  
( $1/\text{m}^2$ )

- a) :  $36,1 \mu\text{Ci}^3\text{H}/\text{gH}$   
 b) :  $3,63 \mu\text{Ci}^3\text{H}/\text{gH}$   
 c) :  $818,2 \text{ nCi}^3\text{H}/\text{gH}$   
 d) :  $276,6 \text{ nCi}^3\text{H}/\text{gH}$

- 0,25  
 2,8  
 $10 \times 1,1$   
 $8 \times 4$

TABLEAU 6.

Activités spécifiques observées dans les tubercules de pomme de terre après dépôt de 1 mCi THO/m<sup>2</sup> appliqué selon divers modes.

Modes d'application	TFWT (nCi <sup>3</sup> H/gH)	OBT (nCi <sup>3</sup> H/gH)	$\frac{\text{A.S. OBT}}{\text{A.S. eau appli-}} / \text{quée}$
Pulvérisation			
- dépôt unique 65 jours avant la récolte	23,3	22,1	$6,0 \times 10^{-3}$
- dépôt répété, 6 fois entre le 107 et 32ème jours avant la récolte	40,2	18,6	$7,6 \times 10^{-2}$
Irrigation			
- exposition continue pendant 3,5 mois jusque 2 mois avant la récolte	23,1	15,6	$3,5 \times 10^{-3}$
Vapeur			
- exposition unique (7 heures)	-	1,6	$1,3 \times 10^{-6}$



( pulvérisation/irrigation, unique/répété ) mais dans le cas d'exposition à la vapeur d'eau tritiée, la teneur en OBT est un ordre de grandeur plus faible, en raison probablement de la dilution par la vapeur d'eau atmosphérique avant d'atteindre le feuillage du végétal exposé ainsi qu'en témoigne le rapport des activités spécifiques entre l'OBT et l'eau tritiée appliquée, rapport qui est de trois ordres de grandeur plus faibles que dans le cas d'aspersion unique.

#### 3.4. Distribution et évolution de l'eau tritiée dans le sol, après dépôt en surface.

En janvier 1969, un dépôt unique d'eau tritiée dont l'activité volumique était de 1,2 mCi/l et le volume déposé de 0,375 l/m<sup>2</sup>, a été effectué sur une prairie. L'évolution de la contamination de l'eau du sol à diverses profondeurs ( - 5, - 10, - 15 et - 25 cm ) et de la nappe phréatique dont la profondeur varie selon la saison a été suivi dans le temps.

On a constaté qu'entre 80 et 260 jours après le dépôt, la concentration la plus élevée ( environ 1 nCi <sup>3</sup>H/ml ) se trouvait dans la zone de collecte - 15 cm où elle est restée assez constante durant l'expérience alors que les concentrations dans les autres zones diminuaient progressivement durant cette période. La nappe a été atteinte par le tritium environ deux mois après le dépôt et le niveau de contamination a ensuite baissé progressivement d'un ordre de grandeur.

Lors d'une expérience en champs circulaires effectuée en 1977, on a observé que l'activité du dépôt retenue, le premier jour, par le sol était de 73% dans le cas des parcelles avec couverture végétale ( dont 67,5 % dans la couche 0 - 10 cm ) et de 93% dans le cas de sol nu ( dont 86,9% dans la couche 0 - 10 cm ). Pour l'ensemble des parcelles cultivées, 41% du dépôt initial était encore présent dans le sol 39 jours après le dépôt mais seulement 0,3% se trouvait encore dans la couche superficielle ( 0 - 10 cm ).

#### 4. Conclusions

Les expériences et les résultats résumés ci-dessus qui s'inscrivent dans le cadre de programme de recherches coordonnées au niveau international ( IAEA de 1972 à 1977 et CCE depuis 1977 ) constituent une source d'informations " de terrain " sur le comportement de l'oxyde de tritium après un dépôt unique ( cas de rejet accidentel ) et après dépôt répété ou chronique ( cas de rejet routine ) dans un environnement terrestre de type atlantique humide. Ces travaux ont montré que le paramètre d'importance majeure déterminant le niveau de contamination de la matière organique des végétaux n'est pas l'activité spécifique de l'eau tritiée déposée par aspersion ou irrigation mais l'activité totale déposée par unité de surface durant le développement de la végétation, et cela indépendamment du mode de dépôt ( unique ou répété ou chronique ).

Ces travaux nous ont aussi permis de définir la méthode de production de fourrage tritié conduisant à un taux d'incorporation optimum qui est respectivement de  $1,2 \times 10^{-2}\%$  et  $2,0 \times 10^{-2}\%$  dans les cas du foin et du maïs fourrager.

#### Remerciements

Les auteurs expriment leurs remerciements à Messieurs V.Athalye et V.Adam pour leur participation active à une partie de ce programme ainsi qu'à Monsieur G.Koch et ses collaborateurs pour la mesure des échantillons " bas-niveaux".

Nos remerciements vont aussi à l'Institut d'Hygiène et d'Epidémiologie du Ministère de la Santé Publique pour l'appui moral et matériel accordé durant ces années ainsi qu'au Département Mesures et Contrôle des Radiations du CEN/SCK pour son concours technique.

## Références

1. KIRCHMANN, R., LAFONTAINE, A., VAN DEN HOEK, J., KOCH, G.  
C.R.Soc.Biol.163,(1969)1459 - 1463.
2. KIRCHMANN, R., VAN DEN HOEK, J., LAFONTAINE, A. Health Physics, 21 (1971)  
61 - 66.
3. KIRCHMANN, R., VAN DEN HOEK, J., KOCH, G., ADAM, V. "Tritium" Ed. A. Alan  
Moghissi and Melvin W. Carter, (1973), 341 - 348.
4. VAN DEN HOEK, J., KIRCHMANN, R. EUR. 4800 d-f-i-e. (1972), 1121 - 1134.
5. KIRCHMANN, R., REMY, J., CHARLES, P., KOCH, G., VAN DEN HOEK, J. I.A.E.A.  
SM-172/81, (1973), 385 - 402.
6. VAN BRUWAENE, R., KIRCHMANN, R., CHARLES, P., VAN DEN HOEK, J. I.A.E.A.  
SM-205/53, (1976), 403 - 410.
7. VAN BRUWAENE, R., KIRCHMANN, R., VAN DEN HOEK, J. Intern.J.Radiat.Biol., 29,  
6, (1976), 571 - 582.
8. VAN DEN HOEK, J., KIRCHMANN, R., VAN BRUWAENE, R. News Letter, Xth Annual  
Meeting E.S.N.A., October 15-21, Zemun, Yugoslavia, (1979)
9. CHARLES, P., REMY, J., VAN BRUWAENE, R., KIRCHMANN, R. Archives Intern.de  
Physiologie et de Biochimie, 82, 2, (1976).
10. BITTEL, R., KIRCHMANN, R., BONNYNS-VAN GELDER, E., KOCH, G. I.A.E.A. SM-184/27  
(1974), 613 - 621.
11. KIRCHMANN, R. Journal Belge de Radiologie, 58, 21, (1975), 135 - 145.
12. KIRCHMANN, R., PIRON, C., MEURICE, M., FAGNIART, E., SIRONVAL, C. Annales de  
l'Association Belge de Radioprotection, 2, 3, (1977), 163 - 182.
13. KIRCHMANN, R., GRAUBY, A., DELMAS, J., ATHALYE, V., KOCH, G., VAN BRUWAENE, R.  
Proc.I.R.P.A., 2, 391, (1977), 625 - 627.
14. KIRCHMANN, R., DUPONT, J.C. Radiation Effects on Aquatic Organisms,  
(N.Egami.Ed) Japan Sci.Soc.Press Tokyo/Univ.park Press, Baltimore  
(1980), 39 - 43.
15. KIRCHMANN, R., BONOTTO, S., SOMAN, S.D., KRISHNAMOORTHY, T.M., IYENGAR, T.S.,  
MOGHISSI, A.A. I.A.E.A., SM-232/96, (1979), 187 - 204.
16. KIRCHMANN, R., DUPONT, J.C. Bull.Rech.Agron.Cembloux 16, 1, (1981), 111 - 136.
17. KIRCHMANN, R., BONOTTO, S. Atti 5 Coll.Int.Oceanogr.Med.messina (1973)  
325 - 333.
18. BONOTTO, S., N'DOITE, I.O., NUYTS, G., FAGNIART, E., KIRCHMANN, R. Current topics  
in Radiation Research, 12, (1975), 115 - 132.
19. BONOTTO, S., BOSSUS, A., NUYTS, G., KIRCHMANN, R., CANTILLON, G., DECLERCK, R.  
Rev.Int.Océanograp.Méd.Tome XLIV, (1978), 127 - 133.
20. STRACK, S., BONOTTO, S., KIRCHMANN, R. Archives Intern.de Phys.et de Biochim.  
87, (1979), 66 - 67.
21. STRACK, S., BONOTTO, S., KIRCHMANN, R. Helgoländer Meeresunters, 33, (1980),  
153 - 163.
22. KIRCHMANN, R. Meeting Radiat.Research Society of Japan 23 - 25 Nov.(1979)
23. VAN BRUWAENE, R., KIRCHMANN, R., GERBER, G.B., VAN DEN HOEK, J. Annales de  
l'Association Belge de Radioprotection, 5, 1, (1980), 35 - 47.
24. GERBER, G.B., BONOTTO, S., ARAPIS, M., KIRCHMANN, R. Annales de l'Association  
Belge de Radioprotection, 3-4, (1982) 283-292.
25. VAN DEN HOEK, J., GERBER, G.B., KIRCHMANN, R. Annales de l'Association  
Belge de Radioprotection, 3-4, (1982) 317-330.
26. ROCHALSKA, M., VAN DEN HOEK, J., GERBER, G.B., KIRCHMANN, R., VAN BRUWAENE, R.  
Annales de l'Association Belge de Radioprotection, 3 - 4, (1982) 331-338.
27. ROCHALSKA, M., VAN BRUWAENE, R., GERBER, G.B. Annales de l'Association  
Belge de Radioprotection, 3 - 4, (1982) 345-352.
28. VAN BRUWAENE, R., GERBER, G.B., KIRCHMANN, R., MAES, J., FAGNIART, E. Annales  
de l'Association Belge de Radioprotection, 3 - 4, (1982) 353-362.
29. ROCHALSKA, M., VAN BRUWAENE, R., GERBER, G.B., KIRCHMANN, R., Annales  
de l'Association Belge de Radioprotection, vol. 7, 3-4 (1982) 363-374.

SAMENVATTING.

Dit overzicht geeft een idee van de proeven uitgevoerd op het SCK vanaf 1968 in het kader van de studie " Overdracht van tritium in de voedingsketen ".

De proeven en de wijze van radioactieve besmetting, van de planten, waren verschillend en bestonden uit :

- a) opname van tritium langs de wortels door kulturen op geïrrigeerde grond,
- b) opname langs het blad door besproeiing met getritieerd water,
- c) blootstelling van de bovenaardse plantendelen aan getritieerde waterdamp onder gecontroleerde omstandigheden.

Over het algemeen lagen de toegediende activiteiten in de vork van enkele  $\text{mCi/m}^2$  ; met uitzondering van de irrigatie proeven die als doel hadden het voortbrengen van veevoeder om uiteindelijk de overdracht in de dieren te bestuderen. Hiervoor werden dan ook enkele honderden  $\text{mCi/m}^2$  toegediend. De studie betreffende de graad van doorstroming van tritium in het compartiment " water " van de plant, heeft aangetoond dat de toegang van tritium tot de organische samenstelling van de plant beperkt is.

De graad van incorporatie van tritium onder organische vorm (OBT) zal worden aangetoond en besproken.

Over het algemeen is het gedrag van tritium kwalitatief gelijk, welke ook de manier van toediening is. Het grootste gedeelte van tritium is gebonden aan een korte verblijfsperiode van enkele dagen in het TFWT ( water in het weefsel ) een kleinere percentage met langere verblijfsperiode ( 25 à 52 dagen ) mag toegeschreven worden aan de organische fraktie.

ABSTRACT.

An overview of the experiments performed since 1968 in the framework of the studies on the transfer of tritium in terrestrial food chains is presented. The experiments varied widely and modes of exposure were :

- a) uptake of tritium through roots from soil irrigated ;
- b) foliar uptake of tritium from sprayed tritiated water ;
- c) certain plant foliages were exposed to vapour ( in the THO form ) under controlled conditions.

Mostly the activities applied were a few  $\text{mCi/m}^2$ , excepted in the irrigation experiments, planned to produce forage for transfer studies to animals, in this latter case the activities applied were a few hundred  $\text{mCi/m}^2$ .

The study of tritium turnover in the water compartment indicates the incorporation of a definite fraction in the organic constituents ; the levels of incorporation of tritium as OBT ( organic bound tritium ) are presented and discussed.

In general, the behaviour of tritium is qualitatively similar for the various modes of exposures with the major part of tritium being associated with short TFWT residence-time and a small percentage with long residence-time (25 to 52 days) which might be attributed to organic fraction.

ZUSAMMENFASSUNG.

Es wird ein Überblick der Versuche gegeben, die im Rahmen der Untersuchungen über die terrestrische Nahrungskette des Tritiums seit 1968 durchgeführt wurden. Die Arten der Exposition bei den verschiedenen Versuchen war :

- a) Aufnahme von Tritium durch die Wurzeln vom irrigierten Boden.
- b) Aufnahme von Tritium durch besprühte Blätter.
- c) Aufnahme von Tritium Wasserdampf durch bestimmte Pflanzenblätter unter kontrollierten Bedingungen.

Meist wurden Aktivitäten von einigen mCi/m<sup>2</sup> gegeben , ausser wenn die Irrigationsversuche zur Produktion von Nahrung für Transfer versuche in Tieren dienen sollten. In diesem Fall lag die Dosis bei einigen 100 mCi/m<sup>2</sup>. Die untersuchung des Tritiumumsatzes in Wasserkompartment zeigte, dass ein bestimmter Teil des Tritiums in die organische Fraktion (OBT) eingebaut wurde, und dies wird im einzelnen besprochen.

Im allgemeinen ist das Verhalten des Tritiums bei den verschiedenen Expositionswegen ähnlich und der Grossteil des Tritiums befindet sich im kurzlebigen TFWT ; ein kleiner langlebiger Anteil ( 25 - 52 Tage ) kann der organischen Fraktion entsprechen.

Annales de l'Association Belge de Radioprotection, vol. 7, n° 3-4 (1982).

INFLUENCE DU CLIMAT SUR LA SORPTION ET LA DESORPTION D'EAU TRITIÉE PAR DES VÉGÉTAUX IRRIGUÉS.

CAMUS, H., DELMAS, J., KIRCHMANN, R.

Commissariat à l'Energie Atomique-Institut de Protection et de Sécurité Nucléaire - Département de Protection - Service d'Etudes et Recherches sur l'Environnement ( France ).

Centre d'Etude de l'Energie Nucléaire - Département de Radiobiologie Mol (Belgique).

Résumé

Des expériences sur le transfert de l'eau tritiée aux végétaux ont été menées concurremment à Mol ( climat océanique humide ) et à Cadarache ( climat méditerranéen sec ). Les observations ont porté sur l'allure des courbes de déconcentration  $^3\text{H}$  de l'eau libre des tissus d'une part, de la matière organique d'autre part. Des analyses de l'eau du sol ont été également effectuées.

Les valeurs de l'évapotranspiration potentielle sont en relation étroite avec les concentrations  $^3\text{H}$  dans la couche superficielle du sol, et l'eau libre des tissus pendant les premiers jours qui suivent l'apport d'eau tritiée.

Il n'apparaît pas que l'évapotranspiration potentielle ait une influence sur l'OBT pendant les 15 jours d'observation et sur le TFWT pendant la période comprise entre le 5 à 6ème jour et le 15ème jour qui suit l'apport d'eau tritiée.

1. Introduction

Le cycle de l'eau dans l'environnement est lié au climat. En particulier, les besoins en eau des plantes sont conditionnés par les conditions climatiques. Aussi, les agronomes évaluent les besoins à l'aide de la mesure de l'évapotranspiration qui est la somme des volumes d'eau utilisés par les plantes ( eau de constitution, eau de végétation ) et évaporés par la surface du sol. En réalité, ils utilisent un critère plus précis : l'évapotranspiration potentielle qui correspond à la double hypothèse du maintien du taux

d'humidité du sol à une valeur très voisine de la capacité de rétention et un développement végétatif optimum.

L'évapotranspiration est un phénomène qui constitue une bonne représentation globale du climat. Il dépend de l'énergie radiante (énergie solaire), de la turbulence de l'atmosphère qui sont deux phénomènes liés directement aux conditions climatiques (température de l'air, vent, durée d'exposition au soleil).

Il était donc naturel d'examiner si le cycle de l'eau tritiée et du  $^3\text{H}$  lié à cette eau, étaient en relation avec l'évapotranspiration.

Dans une précédente expérimentation sur la vigne et l'olivier, nous avons mis en évidence une relation, dans le Sud de la France à CADARACHE, entre le demi-temps de résidence du tritium dans l'eau de transpiration de la vigne et du pommier et l'évapotranspiration potentielle. (1) .

Nous nous sommes proposés dans les essais présentés ici, de comparer la sorption et la désorption du tritium, suite à un apport par l'eau d'irrigation, sous deux climats différents, dans des plants de haricots et de pommes de terre en tenant compte de l'évapotranspiration potentielle.

## 2. Matériel et méthodes

Nous avons procédé concurremment à Mol (climat atlantique humide et tempéré) et à Cadarache (climat méditerranéen sec et chaud), à des aspersions d'eau tritiée sur des cultures de haricots (variété Citender) et de pommes de terre (variété Bintje), proches de la maturité commerciale.

L'activité mise en oeuvre lors d'une aspersion variait entre  $6 \text{ uCi.m}^{-2}$  et  $1,5 \text{ mCi.m}^{-2}$ , les résultats ont été normalisés à un apport d'une curie par mètre carré. La quantité d'eau apportée variait entre 6 et 11 litres par mètre carré, ce qui correspondait sensiblement aux besoins des végétaux lors des apports de tritium.

La mesure a été faite à Cadarache à l'aide d'un appareil de Piche, et les résultats corrigés par la formule de Bouchet. Les observations de Mol ont été basées sur la hauteur d'eau évaporée par une surface libre.

Considérant les grands écarts entre les observations, la comparaison ne pose aucun problème, les chiffres obtenus traduisent très bien l'énorme différence climatique des sites expérimentaux.

Les résultats des comptages radioactifs, effectués en scintillation liquide, sont exprimés en terme d'activité spécifique ( curies de tritium par gramme d'hydrogène présent dans la substance analysée). Ils concernent d'une part le tritium de l'eau libre des tissus ( TFWT ) et d'autre part, le tritium de la matière organique ( OBT ).

Des échantillons ont été prélevés chaque jour ouvrable suivant l'apport de  $^3\text{H}$  durant 15 à 20 jours, parfois plus (Mol). Il s'agit de feuilles et de tubercules de pommes de terre, de feuilles de haricots et de gousses lorsque cela était possible (Cadarache).

L'eau libre du sol a également été extraite, simultanément aux prélèvements de végétaux, et mesurée par scintillation liquide.

### 3. Résultats.

#### a) Données climatiques

Nous les regroupons dans les tableaux I et II.

TABLEAU I.

Données climatiques le jour des contaminations.

Mol			Cadarache	
Expérience I	Expérience II		Expérience I	Expérience II
$4,26 \text{ mm.j}^{-1}$	$2,75 \text{ mm.j}^{-1}$	ETP	$16,5 \text{ mm.j}^{-1}$	$37,7 \text{ mm.j}^{-1}$
$13,5^\circ\text{C}$	$11,8^\circ\text{C}$	Tempér. moyenne	$16,7^\circ\text{C}$	$13,3^\circ\text{C}$
moyenne	moyenne	Nébulosité	forte	moyenne



TABLEAU II

Données climatiques moyennes ( sur 10 à 15 jours ).

MOL			CADARACHE	
EXPERIENCE I	EXPERIENCE II		EXPERIENCE I	EXPERIENCE II
1,7 mmj <sup>-1</sup> ( $\bar{\sigma}$ = 0,9)	1,3 mmj <sup>-1</sup> ( $\bar{\sigma}$ = 0,8)	E T P	38,73 mmj <sup>-1</sup>	33,89 mmj <sup>-1</sup>
11,8° C ( $\bar{\sigma}$ = 2,6)	12,3° C ( $\bar{\sigma}$ = 2,5)	Température	15,0° C ( $\bar{\sigma}$ = 3,2)	12,9° C ( $\bar{\sigma}$ = 1,7)
moyenne	forte	Nébulosité nulle		moyenne

On remarque que la différence entre les températures moyennes de Mol et de Cadarache n'est pas très grande. Cependant, l'amplitude thermique atteint à Cadarache des valeurs incomparablement plus élevées qu'à Mol. De même, en ce qui concerne l'ETP, qui varie entre 12,7 et 91,3 mm.j<sup>-1</sup> à Cadarache, entre 0 et 4,26 mm.j<sup>-1</sup> à Mol.

#### b) Résultats d'analyses de végétaux

Nous reproduisons, dans les figures 1,2, les courbes de désorption obtenues tant à Mol qu'à Cadarache, pour l'une des séries d'analyse qui nous a semblé bien représentative du comportement moyen des végétaux.

Le tableau III constitue une synthèse des résultats obtenus.

D'une façon générale, nous avons scindé les courbes de désorption en deux parties que nous avons chacune représentée par une exponentielle de régression obtenue par la méthode des moindres carrés. Ces courbes sont définies par leur ordonnée à l'origine et leur période de décroissance  $T_1$  pour les premières; par leur période  $T_2$  et leur ordonnée au 15ème jour suivant l'apport de  $^3\text{H}$  pour les secondes ( $Y = a.e^{-\text{Log } 2.t}$ ). Leur validité statistique est donnée par leur coefficient  $r^T$  de corrélation avec le nuage des points.

En ce qui concerne l'eau libre des tissus, la désorption du tritium se fait en deux phases distinctes : la première, rapide, de période variant de 2 à 5 jours, est le reflet à la fois de la dilution isotopique dans le végétal et de l'exposition à la vapeur tritiée venant de l'eau du sol, la seconde de période plus longue semble résulter de l'activité physiologique

TABLEAU III

		MOL				CADARACHE			
		expérience I		expérience II		expérience I		expérience II	
		TFWT	OBT	TFWT	OBT	TFWT	OBT	TFWT	OBT
Haricots Feuilles	Ordonnée à l'origine ( $\mu\text{Ci/g de H}$ )	122	19	71	10	160	26	272	30
	Ordonnée au 15ème jour ( $\mu\text{Ci g de H}$ )	13	16	12	6	13	13	15	14
	T1 (Jours)	3,4	83	3,5	22,9	2,2	17,4	2,0	5,7
	T2 (jours)	10,4	-	19,9	-	4,6	-	4,7	73
	C1 Coefficient de corrélation de la courbe.	91,1	30,8	76,2	61,1	85	52,2	99,8	95
	CII	90,1	-	61,1	-	90	-	85,4	27
Pommes de terre Feuilles	Origine	95	12	75	10	181	25	230	20
	15ème jour	10	7	12	6	30	17	35	15
	T1	3,2	17,5	6,4	20,6	2,6	26,5	3,9	-
	T2	23,1	-	4,6	-	-	-	-	25,4
	C I	96	77,9	85,9	88,6	87	47,2	89,3	-
	C II	51	-	9	-	-	-	-	93,9
Haricots gousses	Origine	/	/	/	/	200	+	150	++
	15ème jour	/	/	/	/	20	9	60	50
	T1	/	/	/	/	3,7	2,7	5,3	6,7
	T2	/	/	/	/	-	3,5	7,7	27,7
	C I	/	/	/	/	26	80,6	51,5	94,2
	C II	/	/	/	/	-	80	96,6	41,2
Pommes de terre Tubercules	Origine	+++	++++	++++	11	/	/	95	44
	15ème jour	+++	++++	++++	9	/	/	40	25
	T1	+++	++++	++++	-	/	/	33,5	-
	T2	+++	++++	++++	24,2	/	/	8,8	25,3
	C I	+++	++++	++++	-	/	/	99,9	-
	C II	+++	++++	++++	69,8	/	/	25,8	90,5

+ : Courbe croissante de 8 à 52, puis décroissante jusqu'à 9  $\mu\text{Ci/g de H}$ .

++ : Courbe croissante de 30 à 58, puis décroissante jusqu'à 50  $\mu\text{Ci/g de H}$ .

+++ : Droite sub-horizontale à 17  $\mu\text{Ci/g de H}$ .

++++ : droite sub-horizontale à 5  $\mu\text{Ci/g de H}$ .

des plantes.

Il y a en effet une relation très nette entre l'évapotranspiration potentielle et le TFWT des feuilles pendant les 5 premiers jours qui suivent l'apport d'eau tritiée par irrigation. Le TFWT décroît en effet d'autant plus vite que l'évapotranspiration est élevée.

On note également que les valeurs des activités spécifiques au début de l'essai vont dans le même sens que les valeurs de l'ETP : Mol II, Mol I, Cadarache I, Cadarache II : plus l'évapotranspiration potentielle est élevée pendant la période de l'irrigation avec de l'eau tritiée, plus la teneur en tritium est élevée dans l'eau libre du tissu végétal.

Les courbes de TFWT des organes de réserve suivent, avec une certaine inertie, les courbes des feuilles. La scission en deux parties distinctes est moins nette et l'allure générale plus anarchique. Il apparaît cependant qu'elles s'inscrivent dans la logique générale énoncée dans ce chapitre.

En ce qui concerne les feuilles, les courbes d'OBT ont une évolution comparable aux courbes de TFWT, bien que les points soient nettement plus fluctuants. Le  $^3\text{H}$  dans la matière organique des feuilles des haricots à Cadarache présente une phase de croissance suivie d'une phase de décroissance dès l'instant où l'on entre dans la seconde partie des courbes de TFWT, c'est à dire dès que la teneur en tritium de l'eau libre a atteint un niveau " d'équilibre physiologique ".

Les résultats d'OBT des tubercules de pommes de terre sont très dispersés, au moins durant les 10 premiers jours. Par la suite, on observe une phase de décroissance à peu près régulière.

Le temps de demi-résidence de l'OBT dans les organes de réserve est de 30 jours environ sur le végétal entier.

Il est donc vraisemblable qu'il y a diffusion de l'eau tritiée dans toute la plante, puis concurremment, une synthèse de substances organiques tritiées. Les substances s'accumulent dans les organes de réserve, tant que la teneur en eau tritiée des feuilles est suffisante - puis, la "consommation" de la plante restant régulière, la synthèse de molécules tritiées allant en diminuant, le niveau de l'OBT dans les organes de réserve diminue peu à peu.

A la fin de la période d'observation ( 15 à 20 jours ), les courbes d'OBT

et de TFWT semblent converger vers des activités spécifiques voisines traduisant un état d'équilibre général.

c) Résultats des analyses d'eau libre du sol.

Des prélèvements ont été effectués dans les premiers centimètres de profondeur, et d'autres dans les 20 centimètres suivants. On observe une descente régulière et lente de la nappe tritiée, après une diffusion rapide, de l'ordre d'une journée au maximum, sur les 20 premiers centimètres. Seules, de très fortes et très brutales élévations de l'ETP peuvent faire remonter la nappe de façon perceptible. En core cette dernière information doit-elle être considérée avec circonspection dans la mesure où elle ne correspond qu'à une seule information, recueillie à Cadarache et que le phénomène observé ( passage d'un jour à l'autre de l'ETP de  $31,5 \text{ mm.j}^{-1}$  à  $91,5 \text{ mm.j}^{-1}$ ) n'est pas des plus fréquents.

Nous reproduirons figure 1 et 2 l'allure des courbes ajustées à des exponentielles des sols de Mol et de Cadarache pour l'une des expériences.

Il est intéressant de noter l'existence d'une bonne corrélation, tant à Mol qu'à Cadarache, entre les teneurs en tritium de l'eau du sol ( couche superficielle ) et les valeurs en TFWT des feuilles de pommes de terre et de haricots. Il n'en est pas de même en ce qui concerne les organes de réserve et l'OBT d'une façon générale.

Pour expliquer la bonne corrélation entre l'eau du sol et l'eau libre de feuilles, on peut avancer l'hypothèse d'une évaporation de l'eau contenue dans cette couche de surface et d'une sorption par les feuilles de cette eau évaporée et de l'eau de cette couche du sol sur les racines.

Conclusion.

Nos observations montrent que, dans nos conditions expérimentales, pour le haricot et la pomme de terre, sous deux climats à évapotranspiration très différents, faible à Mol en Belgique, forte à Cadarache dans le Sud de la France, il y a bien une différence dans la sorption et la désorption de l'eau tritiée par les plantes.

Il y a une relation très nette entre l'évapotranspiration potentielle et le TFWT des feuilles pendant les 5 jours qui suivent l'apport d'eau tritiée par irrigation. A l'instant de cet apport, plus l'évapotranspiration potentielle est élevée, plus le TFWT est élevé. Ensuite, le TFWT décroît plus vite dans la région où l'évapotranspiration est la plus élevée. Par contre dans la période de 5 à 15 jours après l'apport de  $^3\text{H}$ , l'influence de l'évapotranspiration est moins nette et la teneur en TFWT semble liée plus particulièrement à l'activité physiologique des plantes.

En ce qui concerne l'OBT les allures des courbes de l'activité scientifique en fonction du temps concernant les feuilles et les organes de stockage sont nettement différentes sous les deux climats mais il n'apparaît aucune relation particulière entre le tritium lié à la matière organique et l'évapotranspiration potentielle - 15 jours après l'apport du tritium les courbes OBT et TFWT tendent vers des activités spécifiques assez voisines mais qui ne permettent pas de préjuger de l'évolution ultérieure.

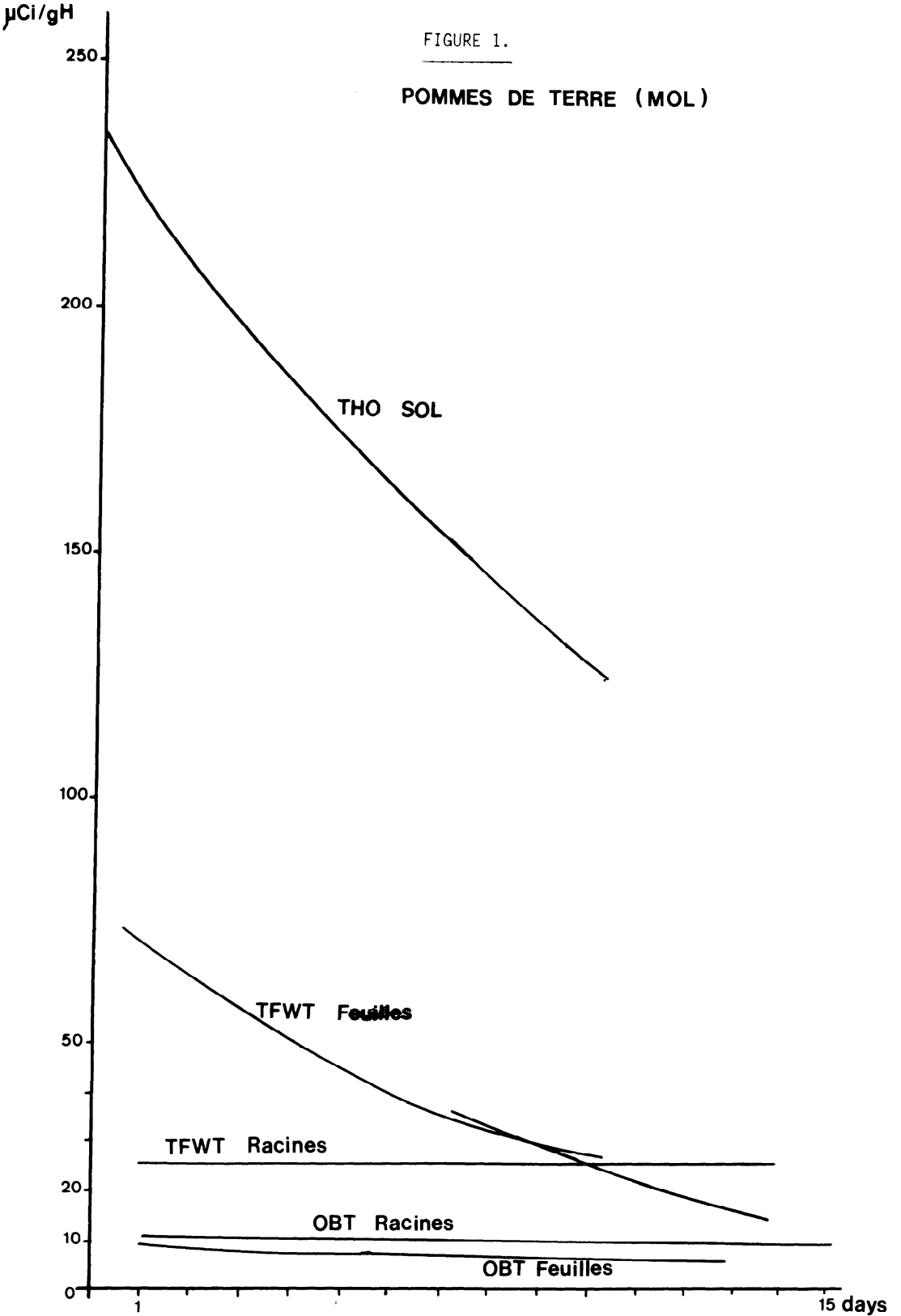
La mesure de l'évapotranspiration potentielle peut donc fournir des informations intéressantes dans l'évaluation de l'impact d'un rejet d'eau tritiée en ce qui concerne le TFWT des plantes pendant les 5 jours qui suivent le dépôt sur les plantes. Pendant cette période lors d'un rejet accidentel sa connaissance de prévoir permettra de prévoir l'évolution des teneurs en  $^3\text{H}$  pour les végétaux et donc des doses reçues éventuellement par les populations.

#### Bibliographie.

- 1) BOVARD, P. et al. Transfert à la ration alimentaire du tritium émis par les installations nucléaires. IAEA-SM-232/99 (1979) Vienne.
- 2) ANCELLIN, J., GUEGUENIAT, P., GERMAIN, P. Radioécologie Marine. Ed. Eyrolles. 1979.
- 3) BELOT, Y., GAUTHIER, D., CAMUS, H., CAPUT, C. Prediction of the environmental transport of tritiated water from air to vegetation. Health Physics, 37, (1979), 575 - 583.
- 4) KIRCHMANN, R., GRAUBY, A., DELMAS, J., ATHALYE, V., KOCH, G., VAN BRUWAELE, R. Evaluation of the dose to man in relation to the behaviour of tritium from irrigation water in agricultural crops. Proceedings I.R.P.A., 2, 391, (1977), 625 - 627.

FIGURE 1.

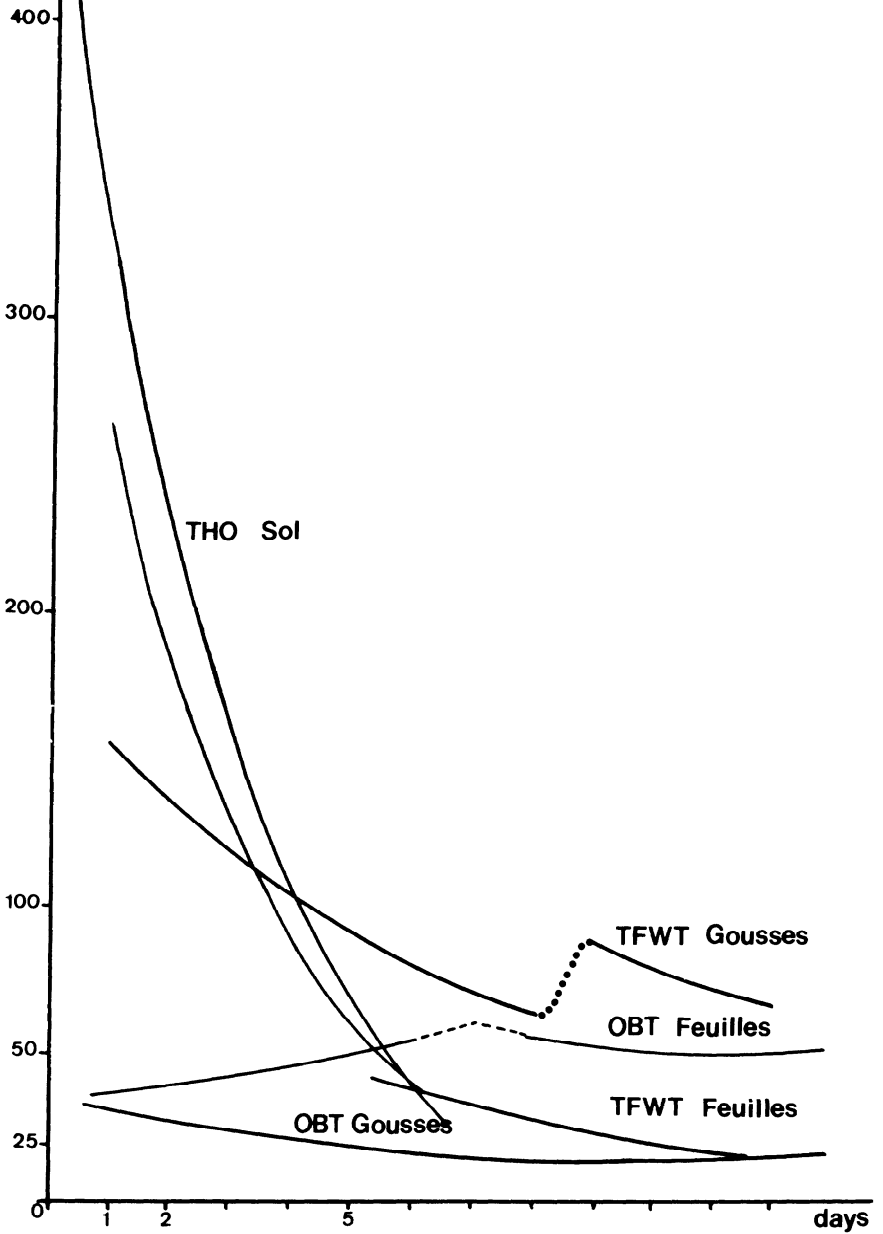
POMMES DE TERRE (MOL)



$\mu\text{Ci/gH}$ 

FIGURE 2.

HARICOTS (CADARACHE)



SAMENVATTING.

De kontaminatie van de planten door getritieerd water werd onderzocht te Mol (onder een gematigd vochtig klimaat) en te Cadarache (onder een droog middellandszee klimaat).

De dekontaminatie snelheid van enerzijds het weefselwater en van anderzijds de organische stof werd bepaald.

De aktiviteit in het grondwater werd eveneens gevolgd.

De waarden voor de potentiële evaporatie die bekomen werden zijn funktie van het niveau van kontaminatie, van de mean residence time in het weefselwater en van de mean residence time in de oppervlakkige laag van de grond.

ABSTRACT.

Experiments of contamination of plants by tritiated water have been made concurrently at Mol (humid temperate climate) and at Cadarache (dry mediterranean climate). The pattern of the curves of decontamination of free water from tissues, on one hand, of the organic matter, on the other hand, was determined. The analyses of the soil water were also achieved. The values of the potential evatranspiration are in close relationship with the levels of contamination and the mean residence time in the free water tissues, as well as with the mean residence time in the superficial layer of the soil.

ZUSAMMENFASSUNG.

Versuche über die Kontaminierung von Pflanzen mit tritiierten Wasser wurden parallel in Mol (feuchtes temperiertes Klima) und in Cadarache (trockenes Mittelmeerklima) durchgeführt. Die Form der Dekontaminierungskurven des freien Gewebewassers sowie der organischen Bestandteile wurde bestimmt. Analysen des Bodenwassers wurden ebenfalls ausgeführt. Die Werte der möglichen Transpiration entsprechen gut dem Niveau der Kontaminierung und der mittleren Hufenthaltszeit im freien Gewebewasser und in den oberflächlichen Bodenschichten.



**DONNEES SUR LA TENEUR EN TRITIUM LIE  
DE POISSONS DES GRANDS FLEUVES FRANCAIS**

Foulquier, L., Pally, M.

C.E.A. France – Département de Protection  
S.E.R.E. Laboratoire d'Etude de Pollution des Eaux  
C.E.N. Cadarache, B.P. 1 – 13115 Saint-Paul-lez-Durance

**RESUME**

Les stations sont choisies en fonction du programme nucléaire français. En tenant compte des dates de prélèvement (1977 à 1982) et des installations nucléaires en fonctionnement, les auteurs distinguent trois zones : celles affectées uniquement par les retombées, celles soumises aux rejets des centrales et une où s'ajoutent les rejets d'une usine de retraitement.

La teneur en  $^3\text{H}$  de l'eau peut être estimée à  $210 \text{ pCi.l}^{-1}$  dans la première, 330 dans la seconde et 490 dans la troisième.

Dans les deux premières zones, les teneurs en  $^3\text{H}$  lié des poissons ne sont pas significativement différentes, la valeur moyenne trouvée est de  $1230 \pm 520 \text{ pCi.kg}^{-1} \text{ sec}$ . En aval de l'usine de retraitement cette valeur passe à  $5360 \pm 1330$ .

Les rapports du  $^3\text{H}$  des poissons au  $^3\text{H}$  de l'eau varient en fonction des lieux de prélèvement et sont toujours supérieurs à 1.

## 1. INTRODUCTION

Le tritium, radio isotope de l'hydrogène, est un des principaux constituants de la matière vivante. La teneur en hydrogène de la matière organique des animaux est de l'ordre de 7,5 % [1]. STRAND J.A. et coll. [23] l'estiment à 7,6 % dans les muscles des poissons et à 5,2 % dans les végétaux aquatiques du genre *Potamogeton*.

Une importante quantité de tritium a été introduite dans l'atmosphère lors des explosions nucléaires, de 1958 à 1962. Par exemple, la teneur en tritium des eaux de surface aux Etats Unis a été maximale en 1963 avec  $4\ 000\ \text{pCi.l}^{-1}$ , depuis elle n'a cessé de décroître pour se stabiliser autour de  $200\ \text{pCi.l}^{-1}$  à partir de 1975 [3, 5, 7].

A cet apport de tritium vient s'ajouter celui de l'industrie nucléaire, dans les effluents liquides les quantités de tritium rejetées sont les plus importantes. D'une manière générale le tritium représente plus de 90 % des rejets liquides des centrales nucléaires [1]. Le réacteur P.W.R. d'Indian Point, aux Etats-Unis, rejette 350 fois plus de tritium que de césium 137 [9]. Le tableau 1 donne quelques valeurs des rejets liquides en tritium des centrales françaises. Les valeurs obtenues pour les centrales P.W.R., à l'exception de Chooz, permettent de dire qu'en moyenne une tranche de 900 MWe rejette 350 Ci de tritium par an. Mais ces rejets sont faibles par rapport à ceux des usines de retraitement des combustibles qui atteignent ou dépassent  $8\ 000\ \text{Ci.an}^{-1}$ . La question de l'intensité et des mécanismes de transfert du tritium dans les écosystèmes d'eau douce est donc posée [2, 16].

Le but de ce travail est de faire un premier bilan sur les teneurs en tritium de l'eau et des poissons récoltés en France entre 1977 et 1982 dans des zones soumises ou non à l'influence des rejets d'installations nucléaires. Le choix des poissons est justifié par leur place dans les chaînes alimentaires et par les problèmes soulevés par d'autres auteurs [3, 4, 7, 19] sur la base des teneurs en tritium trouvées dans les poissons de différentes régions.

## 2. METHODES

### 2.1. Critères de choix des stations de prélèvement

Les stations sont choisies en fonction du programme nucléaire français. Elles servent de points de comparaison actuels et d'éléments de référence pour le futur. La figure 1 indique les lieux de récolte et l'état des installations nucléaires au moment des prélèvements.

### 2.2. Techniques de prélèvement et de préparation des échantillons

Dans le cas de l'eau, il s'agit de prélèvements ponctuels de 2 litres.

On collecte les poissons soit avec des filets, soit par des moyens électriques.

Tableau 1  
 Rejets liquides de tritium de quelques centrales nucléaires françaises \*  
 (en Ci . an<sup>-1</sup>)

Installations Années	Chooz 1 x 350 MWe	Bugey 4 x 900 MWe	Tricastin 4 x 900 MWe	Fessenheim 2 x 900 MWe	Dampierre 4 x 900 MWe	Bugey 1 x 540 MWe	Chinon 1 x 210 MWe 1 x 400 MWe	St Laurent 2 x 500 MWe	Brennilis 1 x 70 MWe
	P . W . R .					U . N . G . G .			H . W . R .
1972	1760								5
1973	1850								42
1974	3300					820			120
1975	2490					240			14
1976	1930					190	110	510	30
1977	2630								
1978	1800								
1979									
1980		1440 (4)	28 (1)	780 (2)	200 (1)				
1981		1330 (4)	1140 (4)	910 (2)	1370 (4)				

\* Chiffres tirés de [8, 10, 20, 22]

( ) Nombre de tranches en fonctionnement

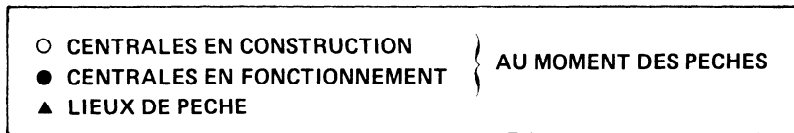
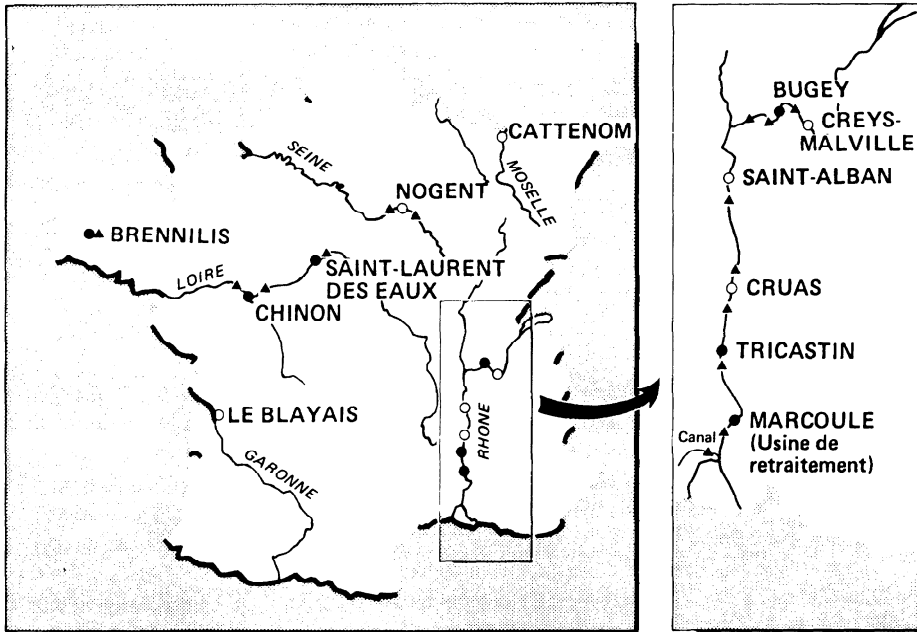


FIG. 1 – STATIONS DE RECOLTE DES POISSONS EN FRANCE ENTRE 1977 ET 1981 POUR LA MESURE DU  $^3\text{H}$  ORGANIQUE

Nous avons ainsi capturé une dizaine d'espèces caractéristiques de tous les grands fleuves français (tableau 2).

Tableau 2  
Liste des poissons récoltés

Nom français	Espèce	Cours d'eau			
		Ellez	Seine	Loire	Rhône
Anguille	Anguilla anguilla (L.)	+	+		+
Barbeau	Barbus barbus (L.)		+		+
Brème	Abramis brama (L.)		+		+
Carpe	Cyprinus carpio (L.)			+	+
Chevaine	Leuciscus cephalus (L.)		+		+
Gardon	Leuciscus rutilus (L.)			+	
Hotu	Chondrostoma nasus (L.)				+
Poisson- chat	Amiurus nebulosus (Le Sueur)			+	
Rotengle	Scardinius crythrophthalmus (L.)				+
Truite	Salmo trutta (L.)				+

Sur le terrain, les poissons sont séparés par espèces et congelés. Au laboratoire, on mesure et on pèse séparément chaque individu ; lorsque les quantités sont suffisantes on éviscère certaines espèces. Les échantillons sont placés à l'étuve à 110° C jusqu'à obtention d'un poids sec constant. Les rapports  $\frac{\text{Poids sec}}{\text{Poids frais}}$  obtenus se situent entre 0,148 et 0,419.

Une analyse statistique de tous les résultats que nous possédons donne une moyenne de 0,257. Cette valeur est identique à celle donnée par COHEN L.K. et KNEIPT.J., 1973 [7] qui estiment que le poids sec représente 25 % du poids frais des poissons.

Quelques végétaux aquatiques ont été prélevés et séchés à 110° C.

### 2.3. Méthode de mesure du tritium

L'eau est distillée pour la débarrasser de ses sels. L'échantillon à mesurer est constitué de 8 ml de ce distillat et de 12 ml d'«Instagel» (mélange scintillateur). Ce mélange, obtenu par agitation dans un flacon en polyéthylène, est mesuré dans un spectromètre  $\beta$  à scintillation liquide. Dans ces conditions, on peut mesurer 500 pCi.l<sup>-1</sup> avec une incertitude de 10 %, à 2  $\sigma$ . Dans le cas d'activité plus faible, on procède à une concentration de l'eau par électrolyse de 50 à 8 ml.

Les échantillons de poissons ou de végétaux déshydratés sont réduits en poudre. Environ 30 g sont conditionnés sous forme de pastilles, et placés dans une nacelle de silice. La

combustion s'effectue dans un four tubulaire dont la chambre de combustion est en inconel et où circule un courant d'air à un débit de 15-20 l/heure ; un catalyseur (oxyde de Cu) porté à 600<sup>o</sup> C parfait l'oxydation ; la température est amenée par palier de 50<sup>o</sup> jusqu'à 600<sup>o</sup>, ce qui demande environ quatre heures ; la combustion est complétée en faisant passer un courant d'oxygène à raison de 15 - 20 l/heure pendant une heure.

La vapeur d'eau est condensée dans un flacon, type barbotteur, refroidi dans un bain d'eau glacée ; l'eau, environ 15 ml, est transférée dans un erlen, alcalinisée par une pastille de NaOH et distillée sous vide ; on vérifie le pH, on prélève 8 ml qui sont mélangés à 12 ml d'Instagel afin d'effectuer la mesure par scintillation liquide. Pour une mesure de 1 000 minutes et un bruit de fond de 8 coups.min<sup>-1</sup>, la limite de détection est de 250 pCi.l<sup>-1</sup> (9 Bq.l<sup>-1</sup>).

### 3. RESULTATS

#### 3.1. Données sur la teneur en tritium de l'eau

Le tableau 3 regroupe les teneurs en tritium mesurées dans l'eau des principaux fleuves français de 1978 à 1982.

Les valeurs dans la Seine au niveau de la centrale de Nogent, en construction au moment des prélèvements, sont élevées par rapport à celles relevées dans les zones uniquement soumises à l'influence des retombées. Elles sont du même ordre de grandeur que les valeurs maximales mesurées à Fourques en aval de toutes les installations nucléaires en fonctionnement sur le Rhône (réacteur U.N.G.G., réacteurs P.W.R., usine de retraitement). Des valeurs du même ordre ont été relevées en d'autres points dans l'eau de Seine, au niveau de Paris (PATTI F., communication personnelle). KIRCHMANN R., DUPONT J.C., 1979 [19] ont observé des teneurs élevées dans l'eau d'autres fleuves ; ils les attribuent à des phénomènes de lixivation ; on pense qu'elles proviennent du pool de tritium organique restant des retombées.

Nous n'avons pas tenu compte de ces valeurs pour le calcul de la teneur moyenne en tritium de l'eau dans des zones uniquement soumises à l'influence des retombées, elle est de  $210 \pm 40$  pCi.l<sup>-1</sup>. Cette valeur est en parfait accord avec ce qui est trouvé en moyenne en niveau mondial et constitue actuellement le « bruit de fond » en tritium dû aux retombées dans les eaux de surface [5].

Dans les zones situées en aval de rejets de centrales nucléaires la valeur moyenne que nous avons trouvée est de  $330 \pm 70$  pCi.l<sup>-1</sup>.

Considérons enfin le cas des valeurs trouvées à Fourques où viennent s'ajouter en plus les rejets d'une usine de retraitement. L'ensemble de nos mesures effectuées bimensuelle-

Tableau 3

Teneur en tritium de l'eau des principaux fleuves français

Fleuve	Site	Date de prélèvement	Teneur en tritium en pCi . l <sup>-1</sup>	
Garonne		Mai 1978	160 ± 20	
			180 ± 20	
			190 ± 20	
Dordogne		Mai 1978	150 ± 20	
			195 ± 30	
			165 ± 20	
Gironde	Chenal médian P.K. 52	Mai 1978	195 ± 30	
			165 ± 20	
			150 ± 20	
Seine	Nogent	Juillet 1981	630 ± 50	
		Novembre 1981	780 ± 20	
Moselle (fleuve) Moselle (gravière)	Cattenom	Février 1982	190 ± 15	
			175 ± 15	
Loire	St Laurent bassins aval	Mai 1979	300 - 370	
		Mai 1978	260 ± 20	
	St Laurent St Laurent aval	Octobre 1978	260 ± 20	
			480 ± 30	
Chinon Chinon aval	Octobre 1979	250 ± 20		
		260 ± 20		
Chinon Chinon aval	Janvier 1980	400 ± 200		
		250 ± 20		
Rhône	Creys Malville	Avril 1980	400 ± 200	
			300 ± 150	
	Saint-Alban	Juin 1980	500 ± 250	
	Fourques Canal d'aménée au niveau de la prise au Rhône		13.02.1981	715 ± 30
			27.02.1981	600 ± 30
			13.03.1981	445 ± 20
			27.03.1981	535 ± 20
			10.04.1981	380 ± 20
			24.04.1981	700 ± 30
			09.05.1981	690 ± 30
			21.05.1981	610 ± 30
			05.06.1981	420 ± 30
19.06.1981			500 ± 30	
03.07.1981			555 ± 30	
17.07.1981	470 ± 30			
14.08.1981	340 ± 20			
28.08.1981	310 ± 20			
25.09.1981	320 ± 20			
09.10.1981	300 ± 20			
23.10.1981	370 ± 20			

ment de février à octobre 1981 donne la valeur moyenne de  $490 \pm 50 \text{ pCi.l}^{-1}$ .

Les analyses de variance appliquées à ces trois valeurs moyennes montrent qu'elles sont significativement différentes. Pour la période de prélèvements considérée 1978 - 1982, on peut envisager de distinguer trois zones : celles où ne se font sentir que les retombées, celles soumises à l'influence des rejets de centrales nucléaires et une zone où s'ajoutent les rejets d'une usine de retraitement. D'autres mesures seront nécessaires pour mieux assurer la signification de cette zonation.

### 3.2. Teneurs en tritium lié des poissons entiers

L'ensemble des teneurs en tritium lié des poissons que nous avons mesurées est rassemblé dans le tableau 4.

Etant donné sa teneur particulièrement élevée, le cas de l'anguille pêchée dans l'Ellez en aval des rejets du réacteur à eau lourde de Brennilis est à considérer à part.

Essayons de voir si, comme pour l'eau, nous pouvons mettre en évidence les trois zones précédentes :

- Dans les zones uniquement soumises à l'influence des retombées, la teneur moyenne en tritium lié des poissons est de  $1335 \pm 650 \text{ pCi.kg}^{-1} \text{ sec}$ , ou  $2240 \pm 1000 \text{ pCi.l}^{-1}$  d'eau de combustion.

La teneur en tritium lié de poissons de l'Hudson River, aux U.S.A. en 1970, varie de 1200 à 10 200  $\text{pCi.l}^{-1}$  d'eau de combustion avec une valeur moyenne de  $3500 \text{ pCi.l}^{-1}$  [7]. Pour des poissons de l'état de New-York, elle est de  $630 \pm 50 \text{ pCi.l}^{-1}$  [5].

BLANCHARD R.L., KAHN B., 1973 [3] donnent comme valeur moyenne en dehors des rejets,  $570 \text{ pCi.kg}^{-1} \text{ sec}$ . En Belgique, KIRCHMANN R. et DUPONT J.C. donnent des valeurs de 1300 à 1800  $\text{pCi.kg}^{-1} \text{ sec}$  [19]. Pratiquement, toutes les valeurs que nous avons relevées se situent entre 600 et  $3500 \text{ pCi.l}^{-1}$  d'eau de combustion.

- En aval des centrales nucléaires, les teneurs en tritium lié des poissons varient de 820 à 1950  $\text{pCi.kg}^{-1} \text{ sec}$ , la valeur moyenne est de  $1170 \pm 250 \text{ pCi.kg}^{-1} \text{ sec}$ , ou  $1860 \pm 400 \text{ pCi.l}^{-1}$  d'eau de combustion. Au moment de nos prélèvements, nous ne pouvions apprécier que l'impact éventuel des rejets de centrales graphite gaz et d'une centrale à eau pressurisée.

En aval de Chooz et de Tihange entre 1972 et 1978, les valeurs trouvées sont comprises entre 910 et  $1540 \text{ pCi.kg}^{-1} \text{ sec}$  [19]. Pour GENIN-MEURISSE, M. et MICHA, J.C. [10] les valeurs pour des gardons éviscérés en aval de Chooz en 1976-1977 varient de 520 à  $7790 \text{ pCi.kg}^{-1} \text{ sec}$  et en aval de Tihange de 730 à  $4810 \text{ pCi.kg}^{-1} \text{ sec}$ . En aval d'un réacteur PWR de 590 MWe installé sur la Connecticut River aux U.S.A. en fonctionnement depuis 1967, la teneur en tritium lié des muscles de poissons varie de 2600 à  $7200 \text{ pCi.kg}^{-1} \text{ sec}$  en 1971 [3].



Tableau 4

Teneur en tritium lié de poissons des principaux fleuves  
français

Fleuve ou Rivière	Lieu de prélèvement	Date de prélèvement	Espèce	Teneur en tritium lié en			pCi <sup>3</sup> H . g <sup>-1</sup> d'eau de combustion pCi <sup>3</sup> H . ml <sup>-1</sup> d'eau de fleuve (Estimation)
				* pCi <sup>3</sup> H . g <sup>-1</sup> sec	pCi <sup>3</sup> H . g <sup>-1</sup> H	pCi <sup>3</sup> H . g <sup>-1</sup> d' eau de combustion	
ELLEZ	Aval de Brennilis	Janvier 1980	Anguille	17,5 ± 0,1	250 ± 1,4	27,8 ± 0,2	—
SEINE	Amont de Nogent	Août 1980	Chevaie	0,63 ± 0,13	9 ± 1,9	1,0 ± 0,2	2
	Aval de Nogent La Motte - Tilly	Janvier 1981 Juillet 1981	Brème Barbeau	0,88 ± 0,13 0,69 ± 0,13	12,6 ± 1,9 9,9 ± 1,9	1,4 ± 0,2 1,1 ± 0,2	2 2
LOIRE	Amont de St Laurent des Eaux	Septembre 1977	Gardon Poisson chat	2,27 1,23	32,4 17,6	3,8 2,6	18 12
	Amont de Chinon	Septembre 1977	Anguille Gardon	1,76 ± 0,19 1,48 ± 0,13	25,1 ± 2,7 21,1 ± 1,9	2,8 ± 0,3 2,3 ± 0,2	8 7
	Aval de Chinon	Septembre 1978	Carpe Gardon	1,45 ± 0,13 1,01 ± 0,13	20,7 ± 1,9 14,4 ± 1,9	2,3 ± 0,2 1,6 ± 0,2	7 6
RHONE	Creys Malville Pont de Briard	Octobre 1979	Barbeau Truite	2,33 ± 0,13 1,32 ± 0,13	33,3 ± 1,9 18,9 ± 1,9	3,7 ± 0,2 2,1 ± 0,2	17 10
	Bugy aval : confluent de l'Ain	Octobre 1979	Chevaie	1,95 ± 0,13	27,9 ± 1,9	3,1 ± 0,2	9
	Bugy aval : canal de Miribel	Avril 1980	Hotu	1,07 ± 0,13	15,3 ± 1,9	1,7 ± 0,2	5
	Saint-Alban : canal de Saint Rambert	Juin 1980	Chevaie	0,82 ± 0,13	11,7 ± 1,9	1,3 ± 0,2	4
	Amont de Cruas : Logs Neuf	Septembre 1979	Carpe Carpe Chevaie Hotu	0,88 ± 0,13 1,01 ± 0,13 0,88 ± 0,13 0,50 ± 0,13	12,6 ± 1,9 14,4 ± 1,9 12,6 ± 1,9 7,1 ± 1,9	1,4 ± 0,2 1,6 ± 0,2 1,4 ± 0,2 0,8 ± 0,2	4 5 4 2
	Aval de Cruas	Septembre 1980	Brème	0,95 ± 0,13	13,6 ± 1,9	1,5 ± 0,2	4
	Aval de Tricastin : canal de <b>Donzère</b>	Juin 1980	Anguille	1,45 ± 0,13	20,7 ± 1,9	2,3 ± 0,2	7
AVAL DE L'USINE DE RETRAITEMENT	Aramon	Juin 1980	Carpe	7,62 ± 0,19	108,9 ± 2,7	12,1 ± 0,3	25
	Seuil de Comps	Juin 1980	Carpe	7,31 ± 0,13	104,4 ± 1,9	11,6 ± 0,2	24
	Aval usine de Beaucaire	Juin 1980	Anguille	4,47 ± 0,13	63,9 ± 1,9	7,1 ± 0,3	14
	Fourques : canal d'aménée au niveau de la prise au Rhône	Octobre 1980	Rotengle	7,88 ± 0,13	112,6 ± 1,9	12,5 ± 0,5	25
		Jun 1981	Brème	5,48 ± 0,13	78,3 ± 2,7	8,7 ± 0,3	18
			Carpe	3,21 ± 0,13	45,9 ± 2,7	5,1 ± 0,3	10
			Chevaie	3,28 ± 0,19	46,9 ± 2,7	5,2 ± 0,3	11
Rotengle	6,52 ± 0,13	94,6 ± 1,9	10,5 ± 0,3	21			
Rotengle	3,53 ± 0,13	50,4 ± 1,9	5,6 ± 0,3	11			
Septembre 1981	Rotengle	4,22 ± 0,13	60,3 ± 1,9	6,7 ± 0,13	14		

\* 1 pCi : 0,037 Bq

Ainsi, toutes les valeurs se situent entre 825 et 12300 pCi.l<sup>-1</sup> d'eau de combustion.

L'analyse de variance des moyennes obtenues à partir de nos prélèvements dans les zones soumises aux seules retombées et dans les zones soumises à l'influence des rejets des centrales en fonctionnement montrent qu'elles ne sont pas significativement différentes.

Pour l'ensemble des prélèvements effectués en France entre 1977 et 1981, la teneur en tritium lié des poissons soumis à l'influence des retombées ou aux rejets des centrales nucléaires est en moyenne de  $1230 \pm 520$  pCi.kg<sup>-1</sup> sec, ou  $1990 \pm 400$  pCi.l<sup>-1</sup> d'eau de combustion.

Ceci est confirmé par les résultats indiqués dans le tableau 5 qui ne montre aucune différence significative dans les teneurs en tritium lié des poissons en amont et en aval de Tihange.

Tableau 5  
Teneur en tritium lié (en pCi.kg<sup>-1</sup> sec)  
de gardons éviscérés récoltés dans la Meuse  
(d'après GENIN-MEURISSE M., MICHA J.C., 1980) [10]

Année	Amont de Tihange 1 (PWR de 870 MWe)	Aval de Tihange 1
1976	720 à 7790	770 à 4810
1977	520 à 1560	730 à 1520

Actuellement, nos mesures ne nous ont pas permis de mettre en évidence une influence du fleuve ni de l'espèce. Cette constatation a été faite par d'autres auteurs [3, 4, 10]. Par contre, COHEN L.K., KNEIP T.J., 1973 [7] observent des variations entre les espèces et les imputent aux différences de régime alimentaire.

– En aval de l'usine de retraitement de Marcoule, les teneurs en tritium lié des poissons augmentent et sont en moyenne de  $5360 \pm 1330$  pCi.kg<sup>-1</sup> sec, ou  $8510 \pm 2150$  pCi.l<sup>-1</sup> d'eau de combustion. Cette valeur est significativement différente de la moyenne précédente.

Les rejets de l'usine de retraitement qui sont plus importants que ceux des centrales et qui durent depuis 1958 induisent une augmentation nette des teneurs en tritium lié des poissons.

En aval des installations d'Oak Ridge où les rejets de tritium dans un lac sont comparables à ceux des usines de retraitement (par exemple 6252 Ci en 1977) et durent depuis une vingtaine d'années, la teneur en tritium lié des poissons est de l'ordre de  $170\ 000\text{ pCi}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ sec}$  [4]. Dans un cours d'eau en aval de l'usine de retraitement de Mol en Belgique, on trouve  $147\ 000 \pm 10\ 400\text{ pCi}\cdot\text{kg}^{-1}\text{ sec}$  [19]. En aval des usines de retraitement on observe de grandes variations dans les teneurs en tritium des poissons qui sont imputables aux conditions différentes de dilution des rejets.

Mais toutes ces valeurs sont significativement supérieures à celles trouvées dans les autres zones.

Ainsi, nous aboutissons aux mêmes constatations faites par KIRCHMANN R., DUPONT J.C., 1980 [19] en Belgique (tableau 6). Actuellement, nous constatons trois zones pour les teneurs en tritium de l'eau. Par contre, si les teneurs en tritium lié des poissons sont comparables en amont et en aval des centrales nucléaires, les rejets des usines de retraitement entraînent des augmentations significatives.

Tableau 6  
Données générales de comparaisons des teneurs  
en tritium mesurées dans l'eau et les poissons en France  
et en Belgique, entre 1972 et 1982

	FRANCE		BELGIQUE [19]	
	Eau pCi $^3\text{H}\cdot\text{m}^3\text{l}^{-1}$	Poissons pCi $^3\text{H}\cdot\text{g}^{-1}\text{ H}$	Eau pCi $^3\text{H}\cdot\text{m}^3\text{l}^{-1}$	Poissons pCi $^3\text{H}\cdot\text{g}^{-1}\text{ H}$
Retombées	0,21	9 $\pm$ 1,9 à 33,3 $\pm$ 1,9	0,36 à 0,43	20,5 $\pm$ 8,3 à 24,9 $\pm$ 7,2
Retombées + rejets de centrales	0,33	7,1 $\pm$ 1,9 à 27,9 $\pm$ 1,9	0,6 à 1,5	13,4 $\pm$ 6,2 à 119,7 $\pm$ 88
Retombées + rejets de centrales + rejets d'usine de retraitement	0,49	45,9 $\pm$ 2,7 à 108,9 $\pm$ 2,7	26,7	2500

L'examen de ce tableau nous amène à faire une autre constatation. En France, quand on augmente l'activité de l'eau d'un facteur 2 environ, c'est-à-dire lorsqu'on passe de la zone concernée par les retombées à la zone en aval d'une usine de retraitement, l'activité des poissons est multipliée par 4 environ. En Belgique, une augmentation de

l'activité de l'eau de l'ordre de 60 entraîne une augmentation de celle des poissons de l'ordre de 190. Dans les deux cas, une augmentation de la teneur en tritium de l'eau provoque une augmentation environ double de celle du poisson. Les processus de contamination indirecte par la chaîne alimentaire semblent bien jouer un rôle important.

### 3.3. Exemples de teneurs en tritium lié des viscères de poissons

On peut essayer d'aborder le rôle de la nourriture dans le transfert du tritium en mesurant l'activité des viscères et des poissons éviscérés (tableau 7).

Que ce soit en amont ou en aval d'installations nucléaires, l'activité des viscères est toujours supérieure à celle du poisson éviscéré.

Nous constatons que les rejets de la centrale du Bugey sont nettement visibles au niveau des viscères de hotus, alors qu'ils ne le sont pas au niveau du poisson éviscéré ou du poisson entier (tableau 4).

Le facteur temps et le rôle de la nourriture se conjuguent et peuvent expliquer les teneurs en tritium lié des poissons.

### 3.4. Quelques données sur la teneur en tritium lié des végétaux

Les végétaux aquatiques sont en général de bons radio-indicateurs. Nous avons voulu commencer à le vérifier pour le tritium. On constate que ces végétaux ont une réponse beaucoup plus rapide et plus importante aux rejets liquides en tritium (tableau 8).

Les teneurs en tritium lié des baldingères, récoltées en juin 1980 à Cruas et Saint Alban sont du même ordre de grandeur que celles des Potamogeton récoltés dans l'Hudson River en 1970 dans une zone concernée par les retombées, soit en moyenne  $1900 \text{ pCi.l}^{-1}$  d'eau de combustion [7].

Les renoncules, prélevées en juillet 1981 en aval du rejet de la centrale du Bugey, ont une activité comparable à celle des myriophylles récoltées à Fourques en avril 1981. En aval d'un réacteur PWR, installé sur la Connecticut River, les algues contiennent environ  $9100 \text{ pCi.kg}^{-1} \text{ sec}$  [3]. En aval des rejets de l'usine de retraitement de Mol, on mesure des activités allant de  $288$  à  $35775 \text{ pCi } ^3\text{H} \cdot \text{g}^{-1} \text{ H}$  dans les végétaux aquatiques [2]. Dans le White Oak Lake, les valeurs se situent entre  $75000$  et  $135000 \text{ pCi.kg}^{-1} \text{ sec}$  [4].

En aval des installations nucléaires, nous constatons, comme d'autres auteurs [2, 3], que la teneur en tritium lié des végétaux est supérieure à celle des poissons.

Les deux valeurs des myriophylles, récoltées à Fourques en avril et juin 1981, montrent

Tableau 7

Teneur en tritium lié des viscères et des poissons éviscérés  
de la Seine et du Rhône

Fleuve	Lieu de prélèvement	Date de prélèvement	Espèce	Partie	Teneur en tritium lié en			pCi <sup>3</sup> H . ml <sup>-1</sup> d'eau du fleuve	pCi <sup>3</sup> H . g <sup>-1</sup> d'eau de combustion pCi <sup>3</sup> H . ml <sup>-1</sup> d'eau du fleuve (Estimation)
					* pCi <sup>3</sup> H . g <sup>-1</sup> sec	pCi <sup>3</sup> H . g <sup>-1</sup> H	pCi <sup>3</sup> H . g <sup>-1</sup> d'eau de combustion		
SEINE	Aval de Nogent La Motte - Tilly	Janvier 1981	Brème	Viscères Poisson éviscéré	0,82 ± 0,13	11,7 ± 1,8	1,3 ± 0,2	0,6	2,2
					0,57 ± 0,13	8,1 ± 1,8	0,9 ± 0,2		1,5
		Juillet 1981	Barbeau	Viscères Poisson éviscéré	0,76 ± 0,13	10,8 ± 1,8	1,2 ± 0,2	0,6	1,9
					0,63 ± 0,13	9 ± 1,8	1,0 ± 0,2		1,6
RHONE	Aval du Bugey Canal de Miribel	Avril 1980	Hotu	Viscères Poisson éviscéré	7,25 ± 0,13	103,5 ± 1,8	11,5 ± 0,2	0,3	38,3
					1,13 ± 0,13	16,2 ± 1,8	1,8 ± 0,2		6,0
		Juin 1981	Rotengle	Viscères Poisson éviscéré	4,1 ± 0,13	58,5 ± 1,8	6,5 ± 0,2	0,5	13,0
					3,34 ± 0,13	47,7 ± 1,8	5,3 ± 0,2		10,6

\* 1 pCi : 0,037 Bq

Tableau 8

Teneur en tritium lié des végétaux du Rhône

Lieu de prélèvement	Date de prélèvement	Espèce	Teneur en tritium lié en			pCi <sup>3</sup> H . ml <sup>-1</sup> d'eau de fleuve	$\frac{\text{pCi } ^3\text{H} \cdot \text{g}^{-1} \text{ d'eau de combustion}}{\text{pCi } ^3\text{H} \cdot \text{ml}^{-1} \text{ d'eau du Rhône}}$
			* pCi <sup>3</sup> H . g <sup>-1</sup> sec	pCi <sup>3</sup> H . g <sup>-1</sup> H	pCi <sup>3</sup> H . g <sup>-1</sup> eau de contamination		
Aval du Bugey Anthon	Juillet 1981	Renoncles	12,0 ± 0,3	171 ± 4	19,0 ± 0,4	0,3 ± 0,10	63
Saint-Alban	Juin 1980	Baldingères	0,95 ± 0,13	13,5 ± 1,8	1,5 ± 0,2	0,5 ± 0,25	3
Amont de Cruas Logis Neuf	Juin 1980	Baldingères	1,20 ± 0,13	17,1 ± 1,8	1,9 ± 0,2	0,5 ± 0,25	4
Fourques Canal d'aménée au niveau de la prise au Rhône	Avril 1981	Myriophylles	14,5 ± 0,4	207 ± 5	23,0 ± 0,6	0,38	60
	Juin 1981	Myriophylles	2,71 ± 0,13	38,7 ± 1,8	4,3 ± 0,2	0,46	9

\* 1 pCi : 0,037 Bq

des variations importantes et rapides des teneurs en tritium. Les végétaux aquatiques ont une forte capacité de fixation du tritium et peuvent ainsi être une source de tritium organique disponible pour les poissons.

L'étude des rapports entre le tritium lié des végétaux et le tritium de l'eau le confirme. Nous obtenons des valeurs se situant entre 3 et 60 et les données bibliographiques donnent des valeurs comprises entre 0,3 et 36 [2, 3, 4, 7, 16, 18]

### 3.5. Estimation des facteurs de concentration des poissons

Le facteur de concentration du tritium lié des poissons s'exprime différemment selon les auteurs :

$$\frac{\text{pCi } ^3\text{H} \cdot \text{g}^{-1} \text{ d'eau de combustion}}{\text{pCi } ^3\text{H} \cdot \text{ml}^{-1} \text{ d'eau de fleuve}} \quad (1)$$

ou

$$\frac{\text{pCi } ^3\text{H} \cdot \text{g}^{-1} \text{ H d'eau de combustion}}{\text{pCi } ^3\text{H} \cdot \text{g}^{-1} \text{ H d'eau de fleuve}} \quad (2)$$

ou

$$\frac{\text{pCi } ^3\text{H} \cdot \text{g}^{-1} \text{ sec}}{\text{pCi } ^3\text{H} \cdot \text{ml}^{-1} \text{ d'eau de combustion}} \quad (3)$$

Les deux premières expressions aboutissent au même résultat. L'expression (2) est en quelque sorte un « rapport observé ».

Nous avons utilisé la première formule pour effectuer nos calculs (tableaux 4 et 7). Nous obtenons toujours des valeurs supérieures à 1. Comparons-les à celles relevées dans la littérature (tableau 9).

La plupart de ces facteurs sont effectivement supérieurs à 1 alors que les facteurs de concentration obtenus expérimentalement sont inférieurs à 1 [1, 13, 18, 21].

COHEN L.K., et KNEIP T.J. [7] utilisent le terme de **concentration relative**, qui permet d'intégrer le tritium lié et celui de l'eau libre.

Il est défini par :

$$\frac{\text{pCi } ^3\text{H} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ sec} \cdot \frac{\text{PS}}{\text{PF}} + \text{pCi } ^3\text{H} \cdot \text{l}^{-1} \text{ d'eau libre} \left(1 - \frac{\text{PS}}{\text{PF}}\right)}{^3\text{H} \cdot \text{l}^{-1} \text{ d'eau de fleuve}}$$

Tableau 9

Comparaison de nos facteurs de concentration à ceux relevés dans la littérature, exprimés

en  $\frac{\text{pCi}^3 \text{H} \cdot \text{g}^{-1} \text{ d'eau de combustion}^*}{\text{pCi}^3 \text{H} \cdot \text{ml}^{-1} \text{ d'eau de fleuve}}$

ZONE	Facteurs de concentration obtenus en France			Facteurs de concentration relevés dans la littérature Mesures «in situ»					
	Poisson entier	Poisson éviscéré	Viscères	Poisson entier		Poisson éviscéré		Muscles	
				Valeur	Référence	Valeur	Référence	Valeur	Référence
Retombées	9 ± 6,5	≈ 2	≈ 2	4 6	[5, 7] [18]			0,8	[3]
Retombées + rejets de centrales	5,5 ± 1,2	6	38	1 > 1 2,4 - 9 10	[12] [16] [19] [18]	2-22	[10]	0,4 - 1,2	[3]
Retombées + rejets de centrales + rejets d'usine de retraitement	17,3 ± 4,3	11	13	0,5 - 0,7 10 jusqu' à 100	[4] [19] [2]				

\* Afin de pouvoir effectuer ces comparaisons, nous avons converti certaines valeurs relevées dans la littérature, sachant que 100 g de matière sèche qui contient 7 % d'hydrogène donnent 63 ml d'eau de combustion et que 1 g d'eau de combustion correspond à 1/9 g d'hydrogène.



Le numérateur représente donc l'activité spécifique du tritium du poisson en fonction du poids frais. Cette fraction est le «facteur de concentration en fonction du poids frais».

Les auteurs s'accordent pour dire qu'il y a équilibre entre l'activité spécifique de l'eau libre des organismes et celle de l'eau dans laquelle ils vivent [4, 7, 18].

Nous avons appliqué ce calcul à nos valeurs (tableau 10). Nous obtenons des facteurs de concentration relative compris entre 1 et 4. COHEN L.K. et KNEIP T.J. [7] ont déterminé la valeur de 1,5 pour les poissons de l'Hudson River soumis aux seules retombées.

Comme KIRCHMANN R. et DUPONT J.C. [19], nous trouvons un rapport entre le tritium lié et le tritium total, compris entre 0,3 et 0,8.

L'activité totale en tritium des poissons est de l'ordre de  $600 \text{ pCi} \cdot \text{kg}^{-1}$  frais dans la zone des retombées et de l'ordre de 1200 dans une zone où interviennent les rejets de centrales et d'une usine de retraitement.

On peut simplement essayer d'estimer la dose délivrée à l'homme par la consommation de poissons. Nous nous bornerons à l'étude des poissons issus de la zone située en aval de toutes les installations nucléaires du Rhône.

Les calculs sont faits actuellement pour l'eau tritiée.

Certains auteurs [3, 12] utilisent le mode de calcul suivant :

La C.M.A. population (CIPR 2, 1959) est de  $3 \cdot 10^6 \text{ pCi} \cdot \text{l}^{-1}$ . Sur la base d'une consommation journalière de 2,2 litres d'eau, le facteur de dose pour la population est de

$$\frac{3 \cdot 10^6 \cdot 2,2}{0,5} = 1,32 \cdot 10^7 \text{ pCi} \cdot \text{j}^{-1} \text{ par rem} \cdot \text{an}^{-1}$$

Dans le cas d'une consommation annuelle de 1 kg de poissons ( $0,003 \text{ kg} \cdot \text{j}^{-1}$ ) dont l'activité est de  $1200 \text{ pCi} \cdot \text{kg}^{-1}$  frais, la dose est de

$$\frac{1200 \cdot 0,003}{1,32 \cdot 10^7} \simeq 3 \cdot 10^{-4} \text{ m rem} \cdot \text{an}^{-1}$$

D'après BOUVILLE A. et coll. [6], le débit d'équivalent de dose effectif engagé sur 50 ans, exprimé en  $\text{Sv} \cdot \text{an}^{-1}$ , est donné par la formule

$$D = f \cdot Q$$

où  $f$  est l'équivalent de dose pour une ingestion unitaire en  $\text{Sv} \cdot \text{Bq}^{-1}$

$Q$  est le débit d'ingestion en  $\text{Bq} \cdot \text{an}^{-1}$

Tableau 10  
 Estimation de la concentration relative des poissons et du pourcentage de tritium lié  
 par rapport au tritium total des poissons

Fleuve	Lieu de prélèvement	Date de prélèvement	Espèce	Tritium de l'eau liée			Tritium de l'eau libre		Activité spécifique du tritium total des poissons en pCi · kg <sup>-1</sup> frais	Concentration relative	<sup>3</sup> H lié dans les poissons (en %)		
				Activité spécifique en pCi · kg <sup>-1</sup> sec	PS* PF	Activité totale des tissus du poisson en pCi	Activité spécifique de l'eau du fleuve en pCi l <sup>-1</sup>	Activité totale de l'eau libre du poisson en pCi					
SEINE	Aval de Nogent La Motte-Tilly	Juillet 1981	Barbeau	690	0,252	173,9	630	471,2	645,1	1,0	27		
LOIRE	Amont de Saint-Laurent des Eaux	Septembre- Octobre 1977	Gardon Poisson chat	2270	0,254	576,6	210	157,5	734,1	3,5	79		
				1230	0,233	286,6		157,5	444,1		2,1	65	
RHONE	Saint-Alban - Canal de Saint-Rambert	Juin 1980	Chevaine	820	0,250	205	500	375	580	1,2	35		
				5480	0,148	811		426			1237	2,5	66
				3210	0,170	546		415			961	1,9	57
				3280	0,173	567,4		500			413,5	981	2,0
6020	0,124	746,5	438	1184,5	2,4	63							
3530	0,253	893,1	373,5	1266,6	2,5	71							
		Septembre 1981	Rotengle	4220	0,251	1059	320	240	1299	4,1	82		

\* PS poids sec  
 • PF poids frais

Dans le cas de l'eau libre,  $f = 1,7 \cdot 10^{-11} \text{ Sv} \cdot \text{Bq}^{-1}$  (CIPR 26 et 30).

Dans les mêmes conditions que précédemment, le débit d'ingestion Q est :

$$Q = 1200 \cdot 0,037 \cdot 1 = 44,4 \text{ Bq} \cdot \text{an}^{-1}$$

D'où le débit d'équivalent de dose effectif engagé sur 50 ans est :

$$D = 1,7 \cdot 10^{-11} \cdot 44,4$$

$$D \approx 8 \cdot 10^{-10} \text{ Sv} \cdot \text{an}^{-1}, \text{ soit } \approx 0,8 \cdot 10^{-4} \text{ m rem} \cdot \text{an}^{-1}$$

BITTEL R. et coll. [2], KIRCHMANN R. et DUPONT J.C. [19] parlent de l'incidence sur la dose délivrée à l'homme en fonction de l'ingestion de poissons, en tenant compte du tritium lié par application de la formule

$$D = \frac{k Q F f_e \epsilon x}{m \lambda}$$

où :

- Q est la masse du vecteur alimentaire ingéré par unité de temps
- F le facteur de transfert milieu-aliment, c'est-à-dire le rapport de l'activité spécifique de l'aliment de l'homme à l'activité spécifique du milieu
- $f_e$  la fraction du radionucléide ingéré par l'homme qui parvient à l'organe de référence
- $\epsilon$  l'énergie par désintégration du radionucléide
- x l'activité spécifique du milieu
- m la masse de l'organe de référence
- $\lambda$  la constante de décroissance effective du radionucléide dans l'organe de référence de l'homme
- k un facteur de proportionnalité dépendant des unités adoptées.

Dans le cas du tritium lié, on a

$$F = \frac{R \cdot 0,022}{0,11}$$

En aval de Marcoule, R (rapport des activités spécifiques du tritium lié à celui de l'eau) est de l'ordre de 17 (tableau 4), ce qui donne  $F = 3,4$ .

$$\text{D'où } \frac{Q F}{m \lambda} = \frac{1 \cdot 3,4}{20 \cdot 0,7} = 2,4 \cdot 10^{-1} \text{ an}$$

Cette valeur est le double de celle de KIRCHMANN R., DUPONT J.C. [19], soit  $1,2 \cdot 10^{-1} \text{ an}$ , en aval d'usine de retraitement, qui donnait  $2,1 \cdot 10^2 \text{ m rem} \cdot \text{an}^{-1}$  par m Ci. l<sup>-1</sup>.

En aval de Marcoule, nous avons une eau à 490 pCi. l<sup>-1</sup>, ce qui donne une dose de  $2 \cdot 10^{-4} \text{ m rem} \cdot \text{an}^{-1}$ .

Tous ces résultats sont relativement proches les uns des autres et relativement faibles, compris entre  $10^{-4}$  et  $3 \cdot 10^{-4} \text{ m rem} \cdot \text{an}^{-1}$ , dans l'état actuel des activités du poisson en aval de toutes les installations nucléaires du Rhône et pour une ingestion annuelle de 1 kg.

#### 4. CONCLUSION

Les observations de WRENN M.E. et JINKS S.M. [24] pour l'eau du lac Michigan, mais qui prennent un sens général, montrent que les teneurs en tritium dues aux retombées diminuent régulièrement depuis 1965 tandis que celles dues aux rejets des installations nucléaires ne cessent d'augmenter. Ainsi dans le cas du Rhône quand toutes les centrales actuellement en construction fonctionneront, on aura un rejet total en tritium de l'ordre de 15000 Ci. an<sup>-1</sup>.

En France, que ce soit dans des zones soumises aux seules retombées ou en aval d'installations nucléaires, nous obtenons des rapports entre l'activité du tritium lié des poissons et des végétaux et celle du tritium de l'eau du fleuve toujours supérieurs à 1. Lorsque les rejets en tritium sont relativement importants et durent depuis plusieurs années, une augmentation de la teneur en tritium des poissons est nettement visible. Dans tous les cas et dans l'état actuel des rejets, les estimations possibles des doses conduisent à des valeurs très faibles.

Mais il faut bien constater que la question essentielle relative à l'origine du tritium lié présent dans les poissons, demeure. Les études à venir doivent à notre avis porter sur la source de cette radio-contamination et tenter d'expliquer pourquoi dans la nature, la teneur en tritium lié des poissons est supérieure à celle de l'eau.

Il y a eu une activité importante des retombées dans les années 60 et une partie importante du tritium est très certainement liée à la matière organique des sédiments. On ne peut pas expliquer les activités des poissons uniquement à partir des retombées ou par des rejets d'eau tritiée, bien que des expériences aient mis en évidence l'incorporation de tritium dans les molécules organiques à partir d'eau tritiée [11, 15, 21].

On peut avancer l'hypothèse de deux origines possibles du tritium lié des poissons.

La première est la présence de tritium organique dans les effluents. Certains auteurs notent qu'il y a différentes formes de tritium dans les rejets et que des organismes incorporent préférentiellement le tritium organique [2, 17].

La deuxième origine est la chaîne alimentaire. Après ingestion de nourriture tritiée, l'activité fixée dans les tissus est plus importante qu'après ingestion d'eau tritiée, de plus le tritium

lié à une période biologique plus longue que le tritium libre et elle varie selon les organes [14]. Il y a donc intégration progressive du tritium dans les chaînes alimentaires. Une étude du cycle du tritium dans une zone uniquement soumise à l'influence des retombées nous semble nécessaire pour apprécier quantitativement le rôle de la nourriture dans le transfert du tritium vers les poissons.

Cela nécessite de faire un inventaire aussi complet que possible des teneurs en tritium organique de maillons pouvant intervenir dans la chaîne alimentaire des poissons (végétaux, invertébrés, débris organiques, matière organique des sédiments). Il faudrait par ailleurs procéder à une analyse des teneurs en tritium des contenus stomachaux des poissons.

Cette orientation devrait permettre de dépasser le stade du constat et d'avancer des preuves quant à l'origine du tritium lié observé dans les poissons sur le terrain.

#### REMERCIEMENTS :

Les auteurs tiennent à exprimer leurs remerciements à Messieurs JEANMAIRE, L., PATTI, F. et BOURGEON, P. qui ont réalisé l'ensemble des mesures de tritium et ont contribué par leurs conseils à la réalisation de ce texte (Laboratoire de Radiotoxicologie du D.Pr - CEA Fontenay-aux-Roses - B.P. 6-92260 Fontenay-aux-Roses).

Nous remercions M. J.M. QUINAULT qui travaille dans notre service d'avoir bien voulu nous aider à la réflexion relative au calcul des doses.

Nous remercions M<sup>m</sup> Y. BAUDIN-JAULENT qui a assuré la préparation des échantillons pour les mesures.

#### BIBLIOGRAPHIE

- [1] ADAMS, L.W., PETERLE, P.J., WHITE, G.C. In : Behavior of tritium in the environment. Symp., San Francisco, U.S.A., 16 - 20 octobre 1978, I.A.E.A. Vienna. IAEA-SM 232/50, 1979, 231-243.
- [2] BITTEL, R., KIRCHMANN, R. and coll. In : Population dose evaluation and standards for man and its environment. Symp., Portoroz, 20 - 24 mai 1974, I.A.E.A. Vienna, IAEA-SM-184/27, 1974, 613-621.
- [3] BLANCHARD, R.L., KAHN, B. In : Environmental behavior of radionuclides released in the nuclear industry. Symp., Aix-en-Provence, 14 - 18 mai 1973, I.A.E.A. Vienna, IAEA-SM-172/26, 1973, 195-204
- [4] BLAY LOCK, B.G., FRANK, M.L. In : Behavior of tritium in the environment. Symp., San Francisco, U.S.A., 16 - 20 octobre 1978, I.A.E.A. Vienna, IAEA-SM-232/74, 1979, 247-256.
- [5] BOGEN, D.C., WELFORD, G.A., WHITE, G.C. In : Behavior of tritium in the environment. Symp., San Francisco, U.S.A., 16 - 20 octobre 1978, I.A.E.A. Vienna, IAEA-SM-232/75, 1979, 567-572.

- [6] BOUVILLE, A. and coll. In : *Méthodologie pour l'évaluation des conséquences radiologiques des rejets d'effluents radioactifs en fonctionnement normal*. Rapport établi par le Commissariat à l'Énergie Atomique et le National Radiological Protection Board, C.E.E. éd., juillet 1979.
- [7] COHEN, L.K., KNEIP, T.J. In : *Tritium*, MOGHISSI, A., CARTER, M.W. eds. Messenger graphics pub. Phoenix, Arizona and Las Vegas, Nevada, U.S.A., 1973. 623 - 639.
- [8] E.D.F. Rapport d'activité 1976. Annexe IX-B. Contrôle des effluents radioactifs et surveillance de l'environnement. E.D.F., rue de Messine, Paris, 1977, 21 p.
- [9] EISENBUD, M. In : *Environmental aspects of nuclear power station*. Symp., New-York, 10 - 14 august 1970, I.A.E.A. Vienna, IAEA-SM-146/55, 1971, 861-876.
- [10] GENIN-MEURISSE, M. MICHA, J.C. *Revue des questions scientifiques*. 1980, 151 (2), 221-234
- [11] HARRISON, F.L. KORANDA, J.J., TUCKER, J.S. In : *Tritium*, MOGHISSI, A., CARTER, M.W. eds. Messenger graphics pub. Phoenix, Arizona and Las Vegas, Nevada. U.S.A., 1973, 363-377.
- [12] HUBEL, K., RUF, M., HERRMANN, H. In : *Comparative studies of food and environmental contamination*. Symp., Otaniemi, 27 - 31 august 1973, I.A.E.A. Vienna, IAEA-SM-175/7, 1974, 105-122.
- [13] I.A.E.A. Technical report series, Vienna, 207, 1981, 117 p.
- [14] JEANMAIRE, L. In : *Toxiques nucléaires*. P. GALLE, Masson éd., 1982, 138-144.
- [15] KIRCHMANN, R., BONOTTO, S. *Atti. 5<sup>ième</sup> Coll. Zut. Ocean. Med.*, Messina, Libraria Bonan Zenga, Messina, 1973, 325-333.
- [16] KIRCHMANN, R., J. Belg. *Radiologie*, 28<sup>me</sup> serie, 58, 1975, 135-145.
- [17] KIRCHMANN, R. and Al., *Ann. Soc. Belge Radioprotection*, 2 (3), 1977, 163-182.
- [18] KIRCHMANN, R., BONOTTO, S., SOMAN, S.D., KRISHNA MOORTHY, T.M., IYENGAR, T.S., MOGHISSI, A.A. In : *Behavior of tritium in the environment*. Symp., San Francisco, U.S.A., 16 - 20 october 1978, I.A.E.A. Vienna, SM-232/96, 1979, 187-204.
- [19] KIRCHMANN, R., DUPONT, J.C. In : *Radiation effects on aquatic organisms*. Nohua Egami Eds. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, 1980, 39-43.
- [20] LUYCK, F., FRASER, G. Commission of the European Communities. Directorate general employment and social affairs. Health and safety directorate. EUR.6088, EN, FR, avril 1978, 48 p.
- [21] PATZER, R.G., MOGHISSI, A.A., Mc NELIS, D.N. In : *Environmental behaviour of radionuclides released in the nuclear industry*. Symp., Aix-en-Provence. I.A.E.A. Vienna, IAEA-SM-172/29, 1973, 403-413.
- [22] RYCKELYNCK, J. *Scoop Energie*, n° 52, 1982, 12 p.
- [23] STRAND, J.A., TEMPLETON, W.L., OLSON, P.A., B.N.W.L. - SA - 5416(CONF. 75/026-31), 1975, 21 p.
- [24] WRENN, M.E., JINKS, S.M. In : *Environmental toxicity of aquatic radionuclides, model and mechanisms*. MILLER, M.W. and STANNARD, J.N. eds., 1976, 229-265.

## Bound tritium levels in fish from the larger french rivers - some data

## ABSTRACT

The sampling stations were chosen as a function of the french nuclear program. Considering the sampling periods (1977 - 1982) and the operating nuclear plants, three areas were determined : 1) affected by fallout, 2) affected by power plant releases, and 3) also affected by the releases from a fuel reprocessing plant. Tritium levels in water in the first, second and third areas were estimated at 210, 330 and 490 pCi.l<sup>-1</sup> respectively. In the first two areas, differences in bound tritium levels in fish were not significant (average value : 1230 ± 520 pCi.kg<sup>-1</sup> dry). Downstream from the reprocessing plant, the average value reached 5360 ± 1330. Tritium ratios in fish vs water varied according to the sampling points and were always above 1.

## SAMENVATTING.

De voorgestelde stations werden gekozen in functie van het Franse nukleaire programma, rekening houdend met de data van verschillende staalname campagnes (1977 tot 1982) en de nukleaire installatie in werking. De auteurs onderscheiden drie zones : de plaatsen uitsluitend onderhevig aan radioactieve neerslag, de plaatsen daarenboven blootgesteld aan de effluenten van nukleaire centrales en één plaats waar zich aan het voorgaande nog de effluenten van een heropwerkingsbedrijf toevoegen. Het gehalte aan 3H in het water bedraagt 210 pCi.l<sup>-1</sup> in de eerste zone, 330 in de tweede zone en 490 in de derde zone. De gehalten aan organisch gebonden tritium waargenomen in vis zijn niet veelzeggend verschillend in de twee eerst vermelde zones, een gemiddelde waarde van 1230 ± 520 pCi.kg<sup>-1</sup> werd waargenomen. Stroomafwaarts van het heropwerkingsbedrijf steeg deze waarde tot 5360 ± 1330. De verhoudingen van het organisch gebonden 3H in de vis en van de 3H activiteit in het water veranderen naargelang de staalnameplaats en zijn steeds groter dan 1.

## ZUSAMMENFASSUNG.

Die Stationen wurden entsprechend dem französischen Kernenergieprogramm gewählt. In Abhängigkeit der Zeit der Probenentnahme (1977 - 1983) und des Betriebs der Kernzentralen wurden drei Zonen unterschieden, eine, die nur von Ausfall betroffen wurde, eine im Einfluss von Abgaben der Kernzentralen und eine nahe einer Aufarbeitungsanlage. Der Gehalt an Tritium in Wasser liegt bei 210 pCi/l in der ersten, bei 330 pCi/l in der zweiten und bei 490 pCi/l in der dritten zone. In den ersten beiden Zonen, war der Tritiumgehalt in Fischen nicht signifikant verschieden ; der gefundene Mittelwert war 1230 ± 530 pCi/kg Trockenmasse. In der Nähe der Wiederaufarbeitungsanlage war dieser Wert 5360 ± 1330 pCi/kg. Das Verhältnis Tritium in Fischen zu dem in Wasser hing vom Ort der Probenentnahme ab, war aber durchweg höher als eins.

Annales de l'Association Belge de Radioprotection, vol. 7, n° 3-4 (1982).

#### MODELIZATION OF TRITIUM TRANSFER INTO THE ORGANIC COMPARTMENTS OF ALGAE

Bonotto S., Gerber G.B., Arapis G., Kirchmann R.

Department of Radiobiology, Centre d'Etude de l'Energie Nucléaire,  
B-2400 Mol, Belgium.

#### Abstract

Uptake of tritium oxide and its conversion into organic tritium was studied in four different types of algae with widely varying size and growth characteristics (*Acetabularia acetabulum*, *Boergesenia forbesii*, two strains of *Chlamydomonas* and *Dunaliella bioculata*). Water in the cell and the vacuoles equilibrates rapidly with external tritium water. Tritium is actively incorporated into organically bound form as the organisms grow. During the stationary phase, incorporation of tritium is slow. There exists a discrimination against the incorporation of tritium into organically bound form. A model has been elaborated taking in account these different factors. It appears that transfer of organic tritium by algae growing near the sites of release would be significant only for actively growing algae. Algae growing slowly may, however, be useful as cumulative indicators of discontinuous tritium release.

#### Introduction

Tritium can enter organic molecules at several sites in the biosphere. Organically bound tritium (OBT) would be expected to attain highest specific activities when it is formed near the sources of release e.g. in the cooling water. When carried downstream it could then constitute a short circuit to man. Bacteria and algae are the organisms most likely to be present near the sources of tritium release. Tritium metabolism has so far been studied mainly in small algae growing actively (1,2,3,4,5,6,7). Under non-stationary conditions of tritium release, OBT activity in algae may exceed tritium activity in surrounding water, and this has been verified in a model (3). In this investigation, we present data and a preliminary model for uptake of water and formation of OBT in four species of algae of different size and growth characteristics.



## Material and Methods

Four types of algae of widely different morphological and physiological characteristics were chosen for the study : *Acetabularia acetabulum*, a relatively large alga with a vacuole occupying about 90% of the organisms, displays little growth under the conditions of the experiment. *Boergesenia forbesii*, an even larger alga (diameter about 5 mm) with a large vacuole, also grows very little. *Chlamydomonas*, a small alga with a small vacuole, divides during the initial five days and then enters a stationary phase. Two *Chlamydomonas* strains were investigated, one (WT) with a cell wall, the other (CW15) without a cell wall. The small alga, *Dunaliella bioculata*, reaches the plateau phase after about 15 days.

The exact conditions of culture are described in detail elsewhere (8,9, 10). In summary, the algae were cultured under continuous illumination with 1500-2000 lux at a temperature of 25-30°C. No organic material was added for the culture of *Dunaliella*. *Chlamydomonas* and *Boergesenia* grew in the presence of 2 mg/l natrium acetate and 1 mg/l natrium glycerophosphate respectively as principal supply of organic carbon. A soil extract (2.5 ml/l) has to be added to the *Acetabularia* cultures.

Uptake of tritium oxide was studied in the large algae *Boergesenia* and *Acetabularia* by exposing the algae to tritium water. Samples of water from the vacuoles of *Boergesenia* were removed with a microsyringe at different times up to 4 hours. The algae were then placed into non-radioactive medium, and the loss of activity from the vacuoles was followed in the same manner. *Acetabularia* cells were exposed to tritium oxide for 2 hours and then transferred to non-radioactive medium. Cells were removed at different times during the loading and the release phase, briefly washed, and their tritium activity was determined by liquid scintillation spectrometry.

Incorporation of tritium into organic matter was studied by exposing the algae to tritium oxide for a period of more than two weeks. The cells were lyophilized, and organic tritium was determined as previously reported (11). The data were fitted by non-linear regression to integrated exponential functions for uptake or to normal exponential functions for release.

When a one term function yielded an unsatisfactory fit, more terms were added. Two term integrated exponential functions converged poorly for organic tritium in *Boergesenia*, *Acetabularia* and *Chlamydomonas* since incorporation could not be pursued near equilibrium, and a linear increase had to be assumed for the observation period.

Distribution of radioactivity in organic matter was studied after 6-7 days exposure to tritium oxide. The lyophilized cells were successively extracted with cold 5.5% trichloroacetic acid (TCA) (small organic molecules), warm methanol (60°C, 1 hour) (lipids, chlorophyll, carotenoids ...), hot TCA°C (90°C, 30 min) (nucleic acids, some proteins), hot 1N NaOH (90°C, 30 min) (proteins). The residue contained various structural material.

### Observations

Tritium oxide is rapidly taken up into the vacuoles of the algae and is lost almost as rapidly as illustrated in fig.1 for *Acetabularia*. Three metabolic components can be discerned in release, one representing about 40% of the total with a half life of a few seconds, a second one (about 50%) with a half life of about 1 min, representing probably water in the vacuoles and a third (about 1.6%) with a half life of about 5 hours. (The half life is calculated from the turnover times given on the figures by multiplication with 0.736). Uptake of water by the vacuole of *Boergesenia* is characterized by essentially one metabolic component (half life 12.4 min).

Small algae incorporate tritium into organically bound form as they grow, but once they have attained a stationary state, incorporation is slow. In *Dunaliella*, the stationary phase has only be attained at the end of the 20 days observation period and half life is in the order of 6.7 days. The value of only 18.4% calculated for equilibrium of organic tritium in *Dunaliella* grown on no organic source suggests that a significant discrimination exists (see 1,3,4,5) against the incorporation of tritium oxide during photosynthesis. For *Chlamydomonas* no difference could be found between the two strains used and the data were combined.

Organically bound tritium increases rapidly to about 30% during the initial phase of growth. When the algae have reached their stationary phase, organic tritium is replaced only with a half life of about 150 days.

Large algae show only negligible or no growth during the observation period. *Acetabularia* displays a phase of rapid incorporation (half life 2.3 days) which attains about 6% of the specific activity of the water (fig.2) as the algae grow when they are transferred into a new medium. Later replacement is slow (half life about 50 days), and the increase is nearly linear. In *Boergesenia*, a linear increase only is observed (half life about 160 days).

The distribution of radioactivity shows typical patterns for the different algae (table 1) after a 6-7 days period of incubation. Large algae contain most organically bound tritium in form of acid soluble, small molecules, representing presumably material dissolved in the large vacuoles. Small algae contain a large percentage of OBT in the alcohol soluble fraction (chlorophyll and lipids).

In describing the observations, one has to take in account the rapid incorporation into OBT during growth and the much slower one when the algae have reached their stationary phase. The present observations can be described by a simple model consisting of an internal water compartment and a compartment of organic tritium whose size varies with time during growth and is constant later on (fig.3). The model also allows for discrimination against incorporation into OBT depending on the growth phase of the cell. The present data will be extended to calculate more exactly these discrimination values for the different algae and to allow the model also take in account different organic compartments as determined so far only for one time point.

## Conclusions

Uptake of tritium oxide into the algae is very rapid and depends on the size of the algae. Algae accumulate organic tritium as they grow; the present data suggest that a discrimination against tritium takes thereby

place. When the algae have reached their stationary phase, little tritium is converted into organic compounds. Consequently, it appears unlikely that algae growing near the area of tritium release will transfer much organic tritium into the biosphere unless conditions of growth are very good. On the other hand, organic tritium of algae in the stationary phase might serve as cumulative indicators of tritium release.

### Acknowledgements

We thank Mr A. Bossus, Mr G. Nuyts and Mr E. Fagniard for technical assistance and Mrs M. C. Hemelaers-Gielen for typing the text, and we acknowledge the financial support of the European Communities (Contract CCE BIO-B-431-B; Publication N° 1915) and of the International Atomic Energy Agency of Vienna (Contract 2579/R1/RB). Dr G. Arapis is a scientific and technical fellow of the Commission of the European Communities.

### References

- (1) RAMBECK, W.A., BASSHAM, J.A., *Biochim. Biophys. Acta* 304 (1973) 725.
- (2) ROSENTHAL, G.M.Jr., STEWART, M.L., *Radionuclides in ecosystems*, BNWL-SA-546 (1973) 440.
- (3) STRACK, S., KISTNER, G., EMEIS, C.C., *IAEA STI/PUB/498* (1979) 219.
- (4) KANAZAWA, T., KANAZAWA, K., BASSHAM, J.A., *Env. Sci. Techn.* 6 (1972) 638.
- (5) SUROWIEC, A., ZAWADZKI, W., SOSNOWSKA, M., *Nukleonika* 24 (1979) 1069.
- (6) SIMON, H., DORRER, H.D., TREBST, A., *Z. Naturforsch.* 19b (1964) 734.
- (7) MOSES, V., CALVIN, M., *Biochim. Biophys. Acta* 33 (1959) 297.
- (8) LATEUR, L., BONOTTO, S., *Bull. Soc. Roy. Bot. Belg.* 106 (1973) 17.
- (9) ENOMOTO, S., HIROSE, H., *Phycologia* 11 (1972) 119.
- (10) SUEOKA, N., *Proc. Natl. Acad. Sci.* 46 (1960) 83.
- (11) KIRCHMANN, R., PIRON, C., MEURICE, M., FAGNIART, E., SIRONVAL, C., *Ann. Ass. Belge Radioprotection* 2 (1977) 163.

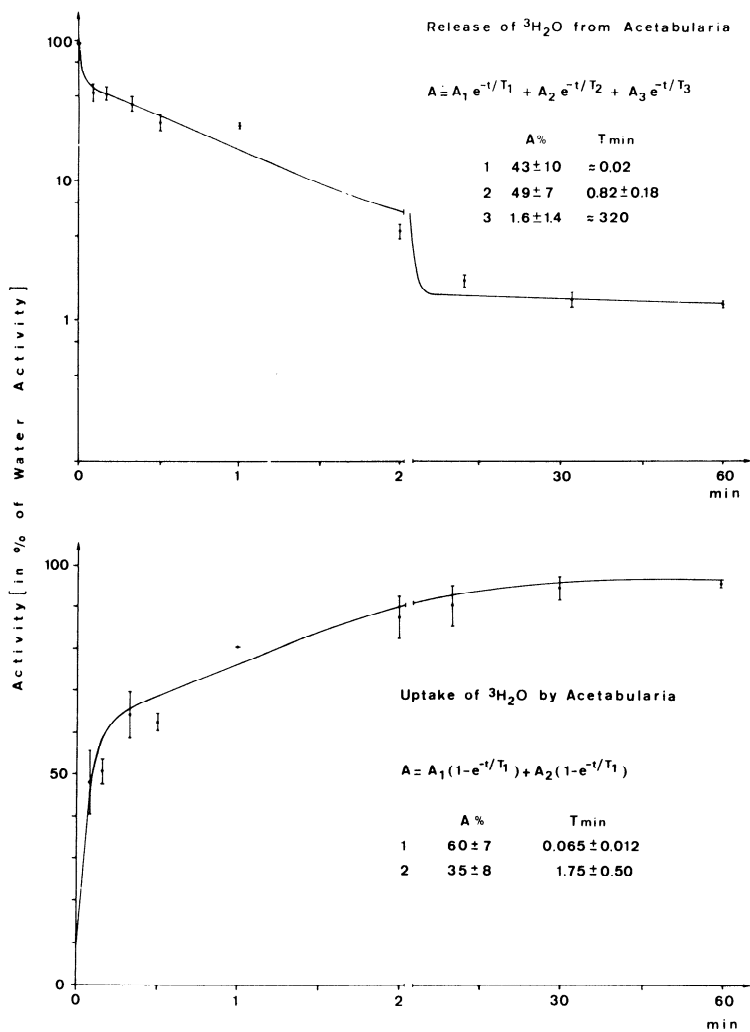


Fig. 1 : Release and uptake of tritiated water by the alga Acetabularia.

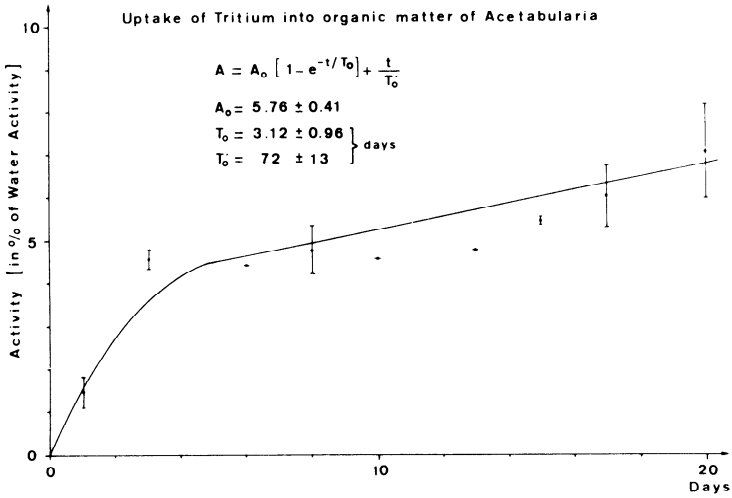
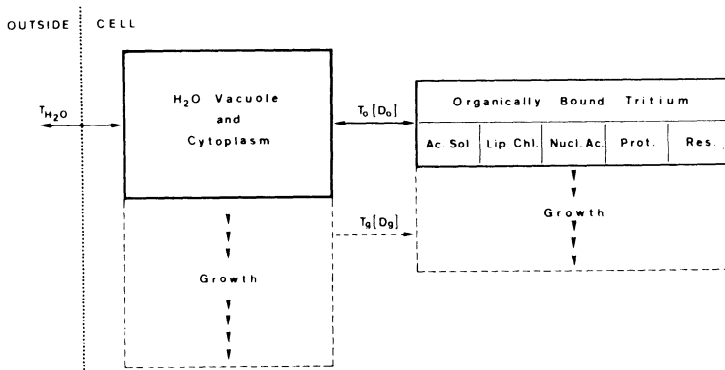


Fig. 2 : Incorporation of Tritium into the organic matter of the alga *Acetabularia*.

Model for Tritium Incorporation into Growing and Stationary Algae



$$\frac{dA_0}{dt} = \frac{1}{T_0} [D_1 A_{H_2O} \cdot A_0] + D_2 \frac{dG[t]}{dt}$$

Growth Function  $C^\infty [1 - e^{-t/T_0}]$

$$A_0 = D_0 A_{H_2O} [1 - e^{-t/T_0}] + D_0 A_{H_2O} C^\infty [1 - e^{-t/T_0}]$$

$\left. \begin{matrix} D_0 \\ D_0 \end{matrix} \right\}$  Discrimination factors [0.2-0.6]

$\left. \begin{matrix} T_{H_2O} & \text{Water uptake} \\ T_0 & \text{Uptake in organic Tritium} \\ T_0 & \text{Growth rate} \end{matrix} \right\}$  Turnover times [Half lifes  $\times 1.36$ ]

$A_{H_2O} \cdot A_0$  Spec. Act. of Tritium oxide and organic Tritium

$C^\infty$  Stationary Algae Concentration relative to that present at start of Experiment

Fig. 3 : Model for Tritium incorporation into growing and stationary unicellular algae.

Table 1. Radioactivity in total organic material and different fractions after 6-7 days growth in tritium oxide.

Alga	Org. 3H % of H <sub>2</sub> O	Acid. sol. %	Alcoh. sol. %	Hot TCA %	Proteins %	Resid. %
<i>Acetabularia</i>	4.56	55.8	6.59	7.14	14.2	1.26
<i>Boergeseria</i>	2.50	65.6	11.0	8.74	7.57	7.09
<i>Chlamydomonas</i>	43.1	12.4	42.4	18.2	26.9	0.1
<i>Dunaliella</i>	11.7	21.8	33.7	33.7	10.7	0.1

For *Acetabularia* and *Chlamydomonas* data from two experiments (in the latter from two strains) were combined. The experiments were carried out after an incubation of 6 days (one *Chlamydomonas* after 7 days). The isolation procedures and composition of the fractions are described in the text.



## Résumé

L'absorption d'eau tritiée et sa conversion en tritium organique ont été étudiées chez quatre types d'algues ayant une taille cellulaire et des modalités de croissance fort différentes (*Acetabularia acetabulum*, *Boergesenia forbesii*, deux souches de *Chlamydomonas* et *Dunaliella bioculata*). L'eau dans la cellule et les vacuoles se met rapidement en équilibre avec le milieu externe. Le tritium est activement incorporé sous forme organique lorsque les organismes croissent. Pendant la phase stationnaire, l'incorporation du tritium est faible. Il y a une discrimination contre l'incorporation du tritium sous forme organique. Un modèle a été élaboré en tenant compte de ces différents facteurs. Il semble donc que le transfert du tritium organique par les algues croissant près des sites de rejet serait significatif seulement lorsqu'elles ont une croissance active. Les algues à croissance lente peuvent cependant être utiles comme indicateurs cumulatifs des rejets discontinus de tritium.

## Samenvatting

De opname van getritieerd water en zijn verandering in organische vorm werden onderzocht in vier soorten algen met zeer verschillende morfologische en groeikarakteristieken (*Acetabularia acetabulum*, *Boergesenia forbesii*, twee soorten van *Chlamydomonas* en *Dunaliella bioculata*). Het evenwicht tussen het water in de cel en in de vacuolen en dit in het buitenmedium werd zeer snel bereikt. Tritium is actief in organische vorm opgenomen alleen in groeiende organismen. Tijdens de stationaire fase daarentegen is de opname van organisch tritium gering. Er is een discriminatie tegen de opname van tritium in organische molekulen. Een model dat met deze verschillende factoren rekening houdt werd uitgewerkt. Bijgevolg blijkt dat het transport van organisch tritium door de algen die in de loozingsplaatsen groeien van belang zou zijn alleen wanneer de algen een actieve groei hebben. De algen met langzame groei kunnen nochtans nuttig zijn als kumulative bio-indikatoren van de niet-kontinue loozing van tritium.

## Zusammenfassung

Die Aufnahme von Tritiumwasser und die Umwandlung in organisch gebundenes Tritium wurden in vier Algen mit ausgeprägt unterschiedlichen morphologischen und Wachstumscharakteristiken untersucht (*Acetabularia acetabulum*, *Boergesenia forbesii*, zwei *Chlamydomonas* Stämmen und *Dunaliella bioculata*). Gleichgewicht zwischen Wasser in der Zelle und den Vakuolen und dem im Medium wird sehr rasch erreicht, dagegen erfolgt die Aufnahme in organische Bindung hauptsächlich bei Wachstum und nur in geringem Umfang in der stationären Phase. Zudem besteht eine Diskriminierung gegenüber dem Einbau von Tritium in organischen Moleküle. Ein Modell wurde entwickelt, das diese verschiedenen Faktoren berücksichtigt. Vermutlich können nur Algen, die rasch wachsen, organisches Tritium in Gebiete mit niedrigerer Aktivität transportieren. Algen mit langsamen Wachstum eignen sich dagegen als kumulative Indikatoren von diskontinuierlicher Tritiumabgabe.

Annales de l'Association Belge de Radioprotection, vol. 7, n° 3-4 (1982)

ROLE DES REACTIONS DE PHOTOSYNTHESE ET D'ECHANGE  
DANS L'INCORPORATION DU TRITIUM DANS LA MATIERE  
ORGANIQUE DES VEGETAUX

GUENOT J., CAPUT C. et BELOT Y.

Commissariat à l'Energie Atomique  
Département de Protection  
B.P. n° 6, 92260 Fontenay-aux-Roses (France)

BOURDEAU F.

Electricité de France  
Direction de l'Equipement S.E.  
3, rue de Messine  
75384 Paris Cedex 08 (France)

Résumé

Des végétaux (*Phaseolus vulgaris* L.) ont été exposés en laboratoire à de la vapeur d'eau tritiée et du dioxyde de carbone marqué par  $^{14}\text{C}$ . Les échantillons recueillis ont été lyophilisés, puis soumis à un processus d'extraction qui permet de conserver l'intégrité du tritium échangeable et de le séparer du tritium non-échangeable.

Ces expériences ont permis de mettre en évidence deux compartiments au sein de la matière sèche, l'un constitué par du tritium organique échangeable, l'autre par du tritium organique non-échangeable. Le premier peut concerner jusqu'à 44% de l'hydrogène de la matière sèche, valeur qui est à rapprocher de la proportion d'atomes d'hydrogène qui pourraient se trouver en position échangeable. Le second ne représente ici que 3 à 5% de l'hydrogène et résulte de la fixation du tritium par photosynthèse ainsi que le montre les valeurs des rapports  $^3\text{H}/^{14}\text{C}$ . Il convient de remarquer que le tritium organique échangeable est très fugace et que le tritium organique habituellement mesuré est généralement du tritium organique non-échangeable.

## INTRODUCTION

La compréhension du comportement du tritium dans les plantes est une étape importante dans la connaissance du transfert de ce radionucléide à l'homme à travers les différentes chaînes alimentaires intermédiaires. Le mécanisme d'entrée du tritium dans l'eau libre des plantes a été étudié par plusieurs auteurs et se trouve maintenant relativement bien connu. En revanche, les mécanismes d'incorporation du tritium dans la matière organique sont moins bien connus. On suppose généralement que l'incorporation du tritium dans les molécules organiques des plantes peut résulter de deux processus: (1) le processus de photosynthèse dans lequel une molécule d'eau s'unit à une molécule de gaz carbonique pour former des carbohydrates et des composés biochimiques plus complexes; (2) un processus d'échange isotopique entre les hydrogènes de la matière organique préexistante et le tritium de l'eau libre. Dans un travail récent nous avons montré que le tritium organique mesuré dans la matière sèche des plantes était entièrement incorporé par photosynthèse (Be 82). En revanche nous n'avons pas pu mettre en évidence d'échange isotopique entre l'eau tritiée et la matière organique préexistante. Il nous a semblé que notre incapacité à mettre ce processus en évidence résultait du mode de traitement des échantillons, et nous avons pensé, en nous fondant sur des travaux antérieurs (Ham 35, La 60, McF 79), que le tritium retenu par échange, pouvait être facilement perdu au cours du traitement des échantillons.

Dans le présent travail, nous avons cherché à nous placer dans des conditions expérimentales telles que le tritium retenu par échange, s'il existe, ne puisse être perdu au cours du traitement des échantillons. Pour cela, après avoir exposé des haricots à de l'eau tritiée, nous avons recueilli des échantillons de matière végétale et nous les avons soumis à un processus d'extraction qui exclut toute perte non contrô-

lée d'hydrogène échangeable et permet de séparer le tritium organique en deux fractions, l'une échangeable et l'autre non échangeable.

#### METHODES EXPERIMENTALES

Les végétaux utilisés sont des pieds de haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) au stade de six feuilles, cultivés sur milieu inerte (vermiculite) en laboratoire. Après une exposition de 6 heures à un flux d'air marqué à l'eau tritiée et au  $^{14}\text{C}$  sous forme dioxyde ( $^{14}\text{CO}_2$ ), les feuilles sont prélevées et analysées afin de déterminer leur teneur en ces deux radionucléides. La quantité de  $^{14}\text{C}$  absorbé permet d'évaluer le taux de photosynthèse effectif au cours de l'exposition (Ses 71, Ye 69).

Le matériel expérimental se compose d'une soufflerie déjà décrite par ailleurs (Bo 78) dans laquelle sont injectés la vapeur d'eau produite par évaporation sur une surface chauffante et le dioxyde de carbone marqué dégagé d'une solution de carbonate de sodium par acidification. Les concentrations obtenues au voisinage de la plante étaient d'environ  $3 \mu\text{Ci.m}^{-3}$  pour le tritium et  $0,01 \mu\text{Ci.m}^{-3}$  pour le carbone 14.

A la fin de la période d'exposition, chaque feuille est prélevée dans le flux d'air marqué, puis introduite dans des tubes en verre fermés par rodage et robinet afin d'éviter les pertes de vapeur d'eau tritiée. Les tubes sont immédiatement connectés au lyophilisateur, de conception similaire à celui décrit par Stewart (St 72). La lyophilisation est poursuivie durant 12 heures. Ensuite l'activité en tritium de l'eau libre est déterminé par comptage en scintillation liquide.

Les échantillons lyophilisés sont ensuite broyés sous atmosphère d'air sec afin de prévenir tout échange de

tritium avec l'hydrogène de l'eau atmosphérique. Ils sont ensuite transférés dans la cellule de balayage représentée sur la fig. 1 où l'échantillon est successivement balayé par de l'air chaud et sec, puis de l'air froid et humide.

Le tritium contenu dans l'eau libre résiduelle est d'abord extrait de l'échantillon en entraînant l'eau par un courant d'air sec et chaud (90°C) et en la recueillant par fractions successives dans un piège froid.

Après récupération de la totalité de l'eau libre résiduelle, le tritium échangeable est ensuite extrait en balayant l'échantillon par un courant d'air humide (70% RH) à température ambiante dont l'humidité est également collectée par fractions successives dans un piège froid. Finalement, la matière sèche est brûlée sous courant d'oxygène. Les gaz de combustion, après passage sur un catalyseur assurant leur complète oxydation, sont récupérés sous forme de CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O dans les pièges adéquats.

Les activités des diverses fractions sont mesurées par scintillation liquide. Les activités spécifiques de l'eau et du CO<sub>2</sub> de combustion sont calculées en assimilant la composition élémentaire de la matière végétale sèche à celle du saccharose. L'activité spécifique du CO<sub>2</sub> atmosphérique est calculée en considérant que la teneur de l'air du laboratoire est de 330 vpm et en tenant compte des débits de dilution.

## RESULTATS ET DISCUSSION

### Extraction sélective des différentes formes de tritium.

Deux expérimentations ont été réalisées successivement à quelques jours d'intervalle. Les quantités de tritium extraites de l'échantillon lyophilisé au cours des diverses opérations (sèchage, échange et combustion) sont exprimées dans le tableau 1 en % du tritium total extrait.

La cinétique d'extraction du tritium par balayage d'air sec, puis humide, est présentée sous forme d'un diagramme (fig. 2) exprimant l'évolution de l'activité recueillie dans les pièges froids par unité de temps. Une seule courbe a été établie, les deux expérimentations ne présentant entre elles que des différences d'ordre quantitatif.

Tableau 1 - Activité extraite de l'échantillon lyophilisé au cours des différentes phases du traitement.

Tritium extrait (en %)	Expérimentation	
	1	2
Séchage	30	55,3
Echange isotopique	56	42
Combustion	14	2,7
<u>Total</u>	100	100

Les résultats du tableau 1 et de la fig. 2 montrent que les échantillons lyophilisés contiennent de l'eau libre résiduelle en quantités notables. Ces quantités, exprimées en % de l'eau contenue dans l'échantillon frais, sont respectivement de 0,66% et 4,1% pour les deux expérimentations, la différence pouvant être imputée à une non-reproductibilité des conditions de lyophilisation. Cette eau résiduelle est habituellement éliminée de l'échantillon lyophilisé en effectuant un séchage complémentaire à l'étuve. Les résultats obtenus ici montrent que ce séchage complémentaire est effectivement indispensable, car la présence d'eau libre fausserait complètement la détermination du tritium organique.

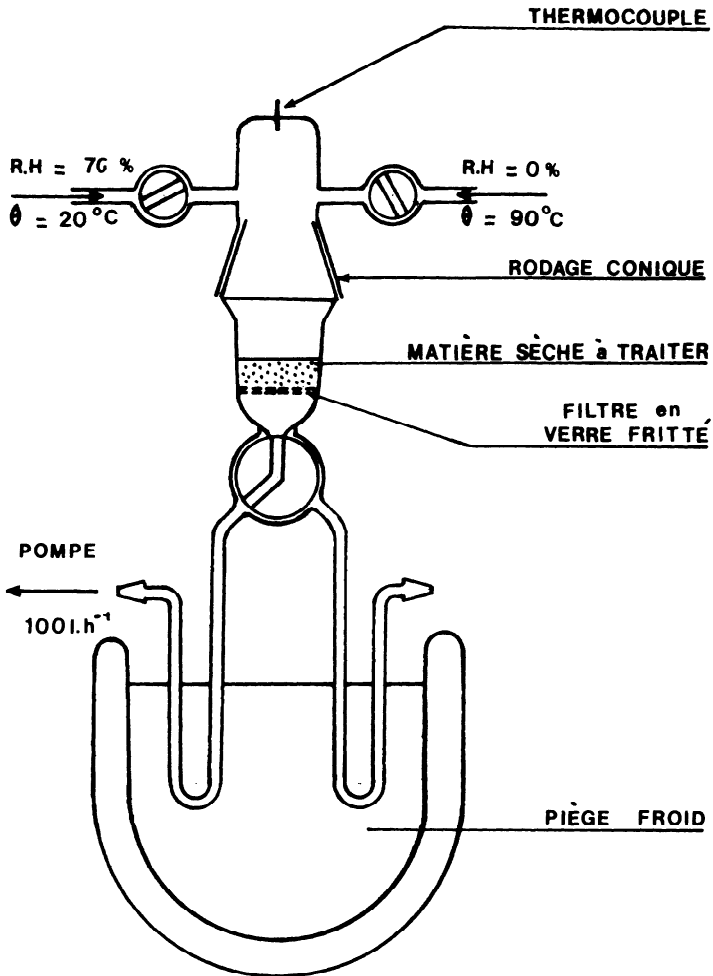


Fig. 1 - Cellule de balayage. L'échantillon est exposé successivement à de l'air sec à la température de  $90^{\circ}\text{C}$ , puis à de l'air humide à température ambiante. La vapeur d'eau est collectée en amont alternativement dans l'un ou l'autre des deux pièges froids.

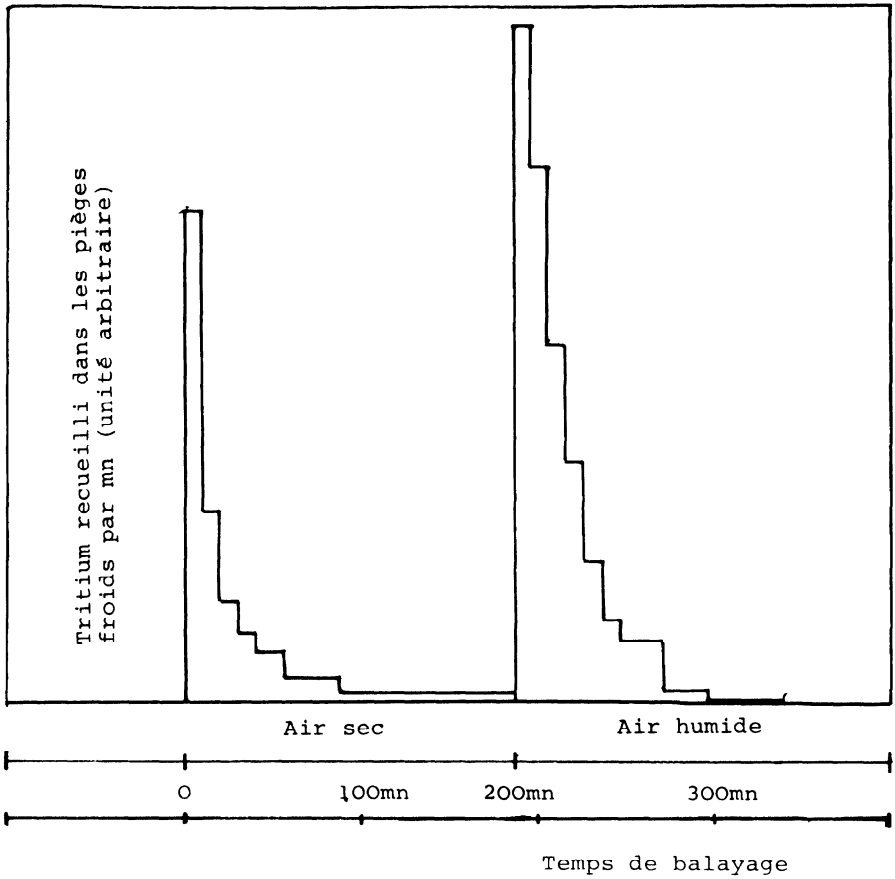


Fig. 2 - Evolution de la quantité de tritium extraite de l'échantillon lyophilisé en le balayant successivement avec de l'air chaud et sec, puis avec de l'air froid et humide.



Il apparaît par ailleurs qu'une activité notable est extraite par un courant d'air humide d'un échantillon dont l'état de siccité a été vérifié. Ce résultat prouve qu'une certaine quantité de tritium a été retenue sur la matière sèche par un processus d'échange isotopique entre l'hydrogène de la matière organique préexistante ou nouvellement formée et le tritium de l'eau libre. Au cours des expériences précédentes (Be 82), cette fraction échangeable disparaissait au cours du traitement de l'échantillon par échange avec l'hydrogène stable de la vapeur d'eau atmosphérique. Ici cette fraction a pu être récupérée et l'on voit dans le tableau I que la majeure partie du tritium organique total se trouve en réalité sous forme échangeable.

Importance relative des compartiments échangeable et non-échangeable.

Afin d'apprécier le degré de marquage de la matière organique et l'importance relative des compartiments échangeable et non-échangeable, les résultats ont été exprimés dans le tableau II en termes de rapports d'activités spécifiques ou rapports de marquage :

$$R_T = \frac{T/H \text{ échantillon}}{T/H \text{ eau libre}}$$

$$R_C = \frac{{}^{14}C/C \text{ échantillon}}{{}^{14}C/C \text{ du CO}_2 \text{ atmosphérique}}$$

Ces rapports qui peuvent varier entre 0 et 1, expriment le degré de marquage c'est-à-dire la part de l'hydrogène ou du carbone de l'échantillon, qui est marquée à la même activité spécifique que HTO ou  ${}^{14}CO_2$ . Lorsque le marquage est total, ces rapports atteignent l'unité.

On voit sur le tableau II qu'une fraction importante de l'hydrogène des deux échantillons est marquée par échange isotopique. Les proportions d'hydrogène organique échangé sont respectivement de 0,18 et 0,44. La valeur plus élevée obtenue pour le deuxième échantillon peut s'expliquer par le fait que l'échange entre eau libre et matière organique s'est poursuivi plus longtemps dans le deuxième cas que dans le premier cas. La proportion maximale de 0,44 obtenue par l'expérience semble surestimée, si on la compare à la proportion théorique d'hydrogène échangeable dans la matière organique des plantes qui serait d'environ 0,30. La surestimation pourrait être due à un enrichissement de l'eau libre résiduelle par fractionnement isotopique au cours de la lyophilisation (McF 79).

Tableau II - Degré de marquage de la matière organique.

		Expérimentation	
		1	2
Tritium organique échangeable	$R_T$	0,18	0,44
	$R_T/R_C$	2,43	8,80
Tritium organique non-échangeable	$R_T$	0,045	0,029
	$R_T/R_C$	0,61	0,58

La proportion d'hydrogène marqué par du tritium non-échangeable, à la même activité spécifique que HTO, n'est ici que de 0,045 et 0,029, soit un ordre de grandeur de moins que pour le tritium échangeable. Les rapports de marquage correspondant respectivement au tritium non-échangeable et au car-

bone-14, ne sont pas très différents, confirmant des résultats antérieurs (Be 82) selon lesquels le tritium non-échangeable serait incorporé par photosynthèse.

En considérant que la photosynthèse se solde par la fixation d'une molécule d'eau par une molécule de  $\text{CO}_2$ , il est possible de calculer la valeur qu'aurait le rapport  $R_T/R_C$  en dehors de tout mécanisme d'échange ou de discrimination isotopique. On peut évaluer que cette valeur théorique est égale à 1,09 lorsque la composition élémentaire de l'échantillon est la même que celle du saccharose. Les différences entre cette valeur théorique et les valeurs expérimentales (0,61 et 0,58) peuvent s'expliquer en remarquant qu'une partie du tritium des molécules récemment photosynthétisées se trouve en position échangeable, et a pu être échangé contre de l'hydrogène stable au cours de la préparation de l'échantillon. La valeur de la différence observée correspond approximativement à la proportion d'hydrogène échangeable qui se trouve lié à l'oxygène dans les molécules de glucose et de saccharose récemment photosynthétisées (Ham 35). L'écart entre les valeurs observées et la valeur théorique du rapport  $R_T/R_C$  est donc interprétable en termes de perte de tritium au cours de la préparation de l'échantillon, et non pas en termes de discrimination isotopique à l'encontre de l'isotope lourd de l'hydrogène. Ce dernier phénomène n'est cependant pas totalement à exclure, mais, s'il intervenait, il n'interviendrait que pour une part relativement faible, qui se confondrait ici avec l'erreur expérimentale.

#### CONCLUSIONS

La coexistence de tritium échangeable et non-échangeable dans la matière organique des végétaux tritiés a été démontrée expérimentalement.

Le tritium organique échangeable, lié à l'oxygène ou à l'azote est retenu par échange entre la matière organique non marquée et l'eau libre tritiée. Le tritium ainsi retenu est très fugace et disparaît facilement dans les conditions habituelles de préparation des échantillons. Ce tritium organique échangeable ne peut être extrait et mesuré que moyennant des précautions expérimentales très strictes visant à éliminer tout échange entre les échantillons et la vapeur d'eau atmosphérique.

Le tritium organique non-échangeable lié au carbone, résulte de la production de matière végétale par photosynthèse. L'activité ainsi fixée est fonction de la production photosynthétique et de la durée d'exposition. Le tritium organique non-échangeable est aisément mesuré par les procédés classiques. Cette fraction du tritium organique total est la plus importante du point de vue de la radioprotection, car le tritium ainsi incorporé a un temps de résidence très long dans les végétaux, il persiste dans les aliments et n'est pas éliminé au cours de leur stockage et de leur préparation.

### Références.

Be 82. Belot Y., Guenot J., Caput C., Bourdeau F. "Incorporation of Tritium into Organic Matter of Terrestrial Plants Exposed to Tritiated Water Releases of Short Duration". Health Physics, (1982), (sous presse).

Bo 78. Botter F. et Belot Y. "Utilisation des isotopes stables dans les études de transfert de polluants entre l'atmosphère et la végétation". Bull. Inf. Scient. et Tech. C.E.A., 230 (1978), 33.

Ham 35. Hamill W.H. and Freudenberg W.J. "Quantitative isotopic exchange reactions in the carbohydrate group". J. Am. Chem. Soc. 57 (1935), 1427-1430.

La 60. Lang A.R.G. and Mason S.G. "Tritium exchange between cellulose and water : Accessibility measurements and effects of cyclic drying". Can. J. Chem. 38 (1960), 373-387.

McF 76. MacFarlane J.C. "Tritium fractionation in plants". Environmental and Experimental Botany, 16 (1976), 9.

McF 79. MacFarlane C., Beckert F. and Brown W. "Tritium in Plants". J. of Env. Quality, 3 (1979), 269.

Ses 71. Sestak R., Catsky J. and Jarvis P.J. "Plant Photosynthetic Production-Manual of Methods". Dr W. Jung N.V. Publ. The Hague (1971).

St 72. Stewart H.L., Kline J.R., Jordan C.F. "A tritiated Water Recovery System". Int. J. of Appl. Rad. and Isot., 23 (1972), 387.

Ye 69. Yemm E.W. and Bidwell R.G. "Carbon dioxide exchanges in leaves - I. Discrimination between  $^{14}\text{CO}_2$  and  $^{12}\text{CO}_2$  in photosynthesis". Plant Physiol. 44 (1979), 1328-1334.

SAMENVATTING.

Planten (Phaseolus vulgaris L.) werden in het laboratorium blootgesteld aan getritieerde waterdamp en aan koolstofdioxide gas gemerkt met  $14\text{-C}$ . De stalen van deze planten werden gevriesdroogd en vervolgens behandeld volgens een extractie methode die toelaat alle uitwisselbaar tritium te scheiden van niet uitwisselbaar tritium.

Deze studie heeft uitgewezen dat er twee compartimenten te onderscheiden zijn in de droge stof, enerzijds het organisch uitwisselbaar tritium en anderzijds het organisch onuitwisselbaar tritium.

Het eerste compartiment, nml. de organisch gebonden maar uitwisselbare waterstof atomen, bedragen tot 44% van de totale waterstof aanwezig in de droge stof. Het tweede compartiment vertegenwoordigd slechts 3 tot 5% van de aanwezige waterstof en werd ingebouwd in de organische stof door de fotosynthetische activiteit van de plant, zoals de waarden van de verhouding  $3\text{H} / 14\text{-C}$  het aanduiden.

Het organisch gebonden uitwisselbaar tritium is zeer vluchtig en het organisch gebonden tritium (OBT) dat gewoonlijk gemeten wordt komt overeen met het niet uitwisselbaar organisch gebonden tritium aanwezig in de plant.

ABSTRACT.

Plants (Phaseolus vulgaris L.) were exposed in the laboratory to tritium water vapor or to carbondioxide labeled with  $14\text{C}$ . The samples were freeze-dried and then extracted in such a way that the entire exchangeable tritium was retained and separated from non-exchangeable tritium. These experiments revealed two compartments in the dry matter, the one consisting of exchangeable organic tritium, the other of non-exchangeable one. The former may consist of up to 44% of the hydrogen in dry matter, a value which corresponds to the proportion of hydrogen in exchangeable positions. The non-exchangeable tritium represents only about 3 - 5% of total hydrogen and is derived from the fixation of tritium by photosynthesis as is also shown by the  $3\text{H}/14\text{C}$  ratio. It is noteworthy that the exchangeable organic tritium is very unstable and that the normally determined organic tritium is non-exchangeable.

ZUSAMMENFASSUNG.

Pflanzen (Phaseolus vulgaris L.) wurden im Labor tritiierten Wasserdampf oder  $14\text{C}$  markiertem Kohlendioxid ausgesetzt. Die Proben wurden gefriergetrocknet, und danach in einer Weise extrahiert, dass die Gesamtheit des austauschbaren Tritium, das andere aus nicht austauschbarem organischen Tritium, das andere aus nicht austauschbarem. Ersteres kann bis zu 44% des Wasserstoffatome in austauschbarem Positionen entspricht. Nur etwa 3 - 5% des Wasserstoffs ist nicht austauschbar und stammt von der Photosynthese, wie es das Verhältnis  $3\text{H} / 14\text{C}$  zeigt. Es ist bemerkenswert, dass austauschbares, organisches Tritium sehr flüchtig ist und dass das gewöhnlich gemessene organische Tritium nicht austauschbar ist.

Annales de l'Association Belge de Radioprotection, vol. 7, n° 3-4 (1982).

THE RELATIVE AMOUNT OF ORGANIC AND INORGANIC  
TRITIUM PRESENT IN THE TISSUES OF ANIMALS EX-  
POSED TO TRITIUM THROUGH THEIR DRINKING WATER  
OR THROUGH THEIR DIET

Commerford, S.L.

Brookhaven National Laboratory

Upton, New York

Most organic tritium in the tissues of animals is present as water and nearly all such tritium atoms exchange rapidly with one another and thus become uniformly distributed throughout all cells and tissues. Consequently the radiation absorbed by the nuclei of cells due to radioactive decay of these tritium atoms is easily calculated. Most organic tritium is present in the form of nucleic acids, carbohydrates, lipids and proteins. This tritium does not exchange and is not uniformly distributed. Determination of the radiation absorbed by nuclei from tritium in these components is much more difficult. Calculations show that when exposure to tritium is through the drinking water, the amount of organic tritium is small compared to the amount of inorganic tritium and contributes little to the radiation absorbed by cell nuclei. When exposure to tritium is through dietary proteins, however, the level of organic tritium exceeds that of inorganic tritium and makes a major contribution to the radiation absorbed.

When considering the biological consequences of environmental exposure to tritium, it is convenient to divide the tritium present in the cell into two categories, one which represents all tritium atoms bound to oxygen, nitrogen or sulphur atoms and another which represents tritium bound to carbon atoms. The amount of radiation absorbed to cells as a result of the radioactive decay of tritium atoms in the first category is relatively easy to determine. These tritium atoms are present principally in the form of water, they equilibrate very rapidly with one another by exchange to reach a uniform specific activity throughout all cells and tissues and this specific activity can be conveniently determined from measurements of the levels of tritium in urinary or plasma water.

It is much more difficult to determine the amount of radiation absorbed by cells due to tritium bound to carbon atoms. The bulk of this tritium is in the form of lipids, carbohydrates, nucleic acids and proteins. Although this tritium may exchange with the hydrogen atoms in cell water during de novo synthesis of these molecules from small precursors, it does not (with a few minor exceptions) exchange in the intact molecule. Consequently the amount of carbon bound tritium present in any given organic molecule depends in a complex way on the specific activity of its precursors during synthesis and its future levels depend on the turnover rate; factors which are specific for each individual component.

In order to fully account for the amount of radiation absorbed by cells from tritium in cell water or exchangeable organic components it is sufficient to determine the initial tritium level in urine or plasma and the turnover rate of water within the organism under consideration. To fully account for the radiation absorbed from non-exchangeable tritium, however, requires knowledge of not only the initial level of each separate organic component and its turnover rate but also of its distribution. The initial levels for any given component may vary widely from tissue to tissue and even from cell to cell in the same tissue depending on its rate of synthesis during exposure to the tritium. An extreme example of this is provided by the tritium content in the DNA of cells exposed to tritiated water. The progeny of cells proliferating at the time of exposure to tritium will contain substantial amounts of tritium in their DNA. Other cells will have no tritium in their DNA at all except for a small amount, trivial by comparison, which enters due to unscheduled DNA synthesis.

The distribution of organic tritium within the cell is also important since the radiation which accompanies tritium decay has a very short range and will in most cases reach the nucleus, the radiosensitive area of the cell, only if it originates from within the nucleus. The mean range of a tritium  $\beta$  particle is 0.69  $\mu\text{m}$ . As a result, if tritium is uniformly distributed throughout a cell which has a spherical nucleus



8  $\mu\text{m}$  in diameter, 80 % of the radiation absorbed by the nucleus originates from the disintegration of tritium atoms located in the nucleus and only 20 % from tritium atoms in the cytoplasm (1).

In some circumstances the amount of non-exchangeable organic tritium in the cell nucleus is small compared to the amount present as exchangeable tritium and in these cases detailed knowledge of the initial level, turnover rate and cell distribution of various organic tritium components is unnecessary. It is sufficient to add a small correction factor to the value calculated for radiation absorbed from decay of exchangeable tritium. An example of this is provided by animals chronically exposed to tritiated water. Table 1 shows the probable distribution of non-exchangeable organic hydrogen atoms and exchangeable hydrogen atoms among components of the cell nuclei. This distribution is calculated assuming a total nuclear mass of 270 pq which is 70% by weight water (1) contains 6 pq DNA (2), has a protein to DNA weight ratio of 4 (3) with the remainder of the dry weight being equally divided between lipids and carbohydrates. The exchangeable and non-exchangeable hydrogen content listed in Table 1 for DNA are the values calculated for mammalian DNA (4,5), that of proteins is the average value calculated for hemoglobin, cytochrome C and histones, that of carbohydrate is calculated for glycogen and that of lipids is calculated for tripalmitin. Clearly, water accounts for most of the hydrogen present in the nucleus. It represents 76% of the total hydrogen and 96% of the exchangeable hydrogen. The data in Table 2 shows that water accounts for an even greater fraction of the total tritium present in the cell nucleus after chronic exposure to tritiated water since the specific activity of non-exchangeable tritium in DNA, protein, carbohydrates and lipids is much less than that of cell water (5,6). When this is factored in, water accounts for nearly 90% of the total tritium while non-exchangeable organic tritium accounts for only 6.3%.

If the exposure to tritiated water is of short duration, rather than chronic, the relative amount of radiation absorbed by the cell nucleus will be much the same except that the progeny of cells proliferating during exposure to tritium will incorporate substantial amounts into their DNA and histones. Since these components turn over very slowly (7-9), they compensate for their small size by their persistence and thus make a significant contribution to the total amount of radiation absorbed by the nuclei of cells with a long life span. Proliferating cells with a long life span are rare in adult organisms but fairly common in juveniles or embryos.

A number of studies have suggested that animals exposed to tritium via their diet rather than through their drinking water will incorporate significant amounts in non-exchangeable organic components of their tissues. A recent investigation of the efficiency of transfer of non-exchangeable hydrogen atoms from amino acids in dietary proteins to amino acids in serum proteins of mice provides sufficient quantitative data to permit explicit predictions concerning the tritium levels to be expected in the proteins of the cell nuclei of animals fed tritiated protein (10). Although the transfer efficiency actually measured was that of unlabelled hydrogens in the diet to tissue proteins in the presence of tritiated tissue water, in the absence of isotope effects this will be equivalent to the transfer efficiency of tritium from tritiated proteins to tissue proteins in the presence of normal tissue water. Since the carbon-tritium bond is stronger than the carbon-hydrogen bond, if isotope effects do occur, it is expected that the efficiency of transfer will be greater for tritium than for hydrogen. The transfer efficiency for non-exchangeable hydrogens in seven amino acids (threonine, phenylalanine, tyrosine, lysine, leucine, valine, and isoleucine) was quite high. The amount of exchange during transit from diet to tissue was small and could be entirely accounted for by exchange at the  $\alpha$  carbon atom by transamination reactions. Such an exchange of the  $\alpha$  carbon atom of leucine has been observed in tissue culture (11) and similar processes must operate with valine, methionine, isoleucine, tyrosine and phenylalanine

since these essential amino acids can be substituted for by their  $\alpha$ -keto derivatives (12). More extensive exchange was observed with methionine. This probably represents transmethylation reactions known to occur with this amino acid. The remaining amino acids, all non-essential, transformed much less unlabelled hydrogen into tissue proteins. This probably indicates de novo synthesis rather than exchange.

From these data it is possible to calculate the specific activity of tissue proteins which would result from a chronic diet of tritiated proteins. Although the precise amount of tritium appearing in tissue proteins will depend on their amino acid composition, the calculated transfer efficiencies for a number of proteins with considerably different amino acid composition are very nearly the same. The data in Table 3 shows that there will be slightly more tritium incorporated into histones in the cell nucleus than is present as water and that there will be over three times as much tritium present in non-histone nuclear proteins.

The biological half lives of these components are shown in the next columns of Table 3 and the final column shows the effect this would have if exposure to tritiated dietary protein were of short duration rather than chronic. In this case the distribution of tritium in histones will be very non-uniform from cell to cell. The histones of non-proliferating cells will contain very little tritium whereas the histones of proliferating cells will contain an amount which, when the biological half life is considered, will deposit twenty times more radiation in the nucleus than will the tritium in nuclear water.

It appears then that organic tritium makes such a small contribution to the radiation absorbed by the cell nuclei of animals chronically exposed to tritiated water that it can be dealt with by adding a small correction factor to the calculation for the much larger amount of radiation due to exchangeable tritium. However, if exposure to tritium is through dietary protein, the non-exchangeable organic component is large and must be considered separately. These conclusion hold

if exposure, whether by water or dietary protein, is for a short period rather than chronic, except for proliferating cell with a long life span. In these cells, the organic tritium becomes more important due to the persistence of tritium in their DNA and histones. Such cells are probably not important in adult organisms but become more important in juveniles and embryos. A particularly important example is the primary oöcytes of the female embryo which proliferate during the third trimester of pregnancy and survive for the reproductive life of the female (13).

**Table 1****The Distribution of Exchangeable and Non-exchangeable Hydrogen Atoms among the Components of Cell Nuclei.**

Component	Wgt <sup>a)</sup> (pg)	Wgt % H <sup>b)</sup>		Wgt (pg) H	
		Exch <sup>c)</sup>	Non-exch <sup>d)</sup>	Exch <sup>c)</sup>	Non-Exch <sup>d)</sup>
H <sub>2</sub> O	188	11.1	0	20.82	0
DNA	6	0.6	3.0	0.04	0.18
Protein	24	1.5	5.5	0.36	1.32
Carbohydrate	25	1.9	4.3	0.48	1.08
Lipid	25	0	12.2	0	3.05

<sup>a)</sup> These weights, in picograms per nucleus, are calculated assuming a total nuclear mass of 268 pg which is 70 % by weight water (1) contains 6 pg of DNA (2), has protein to DNA weight ratio of 4 (3), with the rest of the dry weight distributed equally between lipids and polysaccharides.

<sup>b)</sup> The H content listed for DNA is calculated for mammalian DNA (4), that of proteins is the average value calculated for hemoglobin, cytochrome c and histones, that of carbohydrates is calculated for glycogen and that of lipids is calculated for tripalmitin.

<sup>c)</sup> Exchangeable hydrogen atoms

<sup>d)</sup> Non-exchangeable hydrogen atoms

**Table 2****The Distribution of Exchangeable and Non-exchangeable Tritium among Components of the Cell Nuclei after Chronic Exposure of Mice to Tritiated Water.**

Component	Sp. Activity <sup>a)</sup> (Non-Exch)	% of Total Tritium	
		Xch <sup>b)</sup>	Non-Xch <sup>c)</sup>
H <sub>2</sub> O		89.9	0
DNA	0.72	0.2	0.6
Protein	0.28	1.6	1.6
Carbohydrate	0.55	2.1	2.5
Lipids	0.12	0	1.6

<sup>a)</sup> The specific activity for DNA, protein and carbohydrate relative to that of tissue water is that reported for mice chronically exposed to tritiated water (5) and the specific activity of lipids is that reported for similarly exposed rats (6).

<sup>b)</sup> Exchangeable hydrogen atoms

<sup>c)</sup> Non-exchangeable hydrogen atoms

**Table 3**

**The Relative Effect of Tritium in the water, Histones and Nonhistone Proteins of the Cell Nucleus after a Single Exposure of Humans to Dietary Protein Uniformly Labelled with Tritium.**

	<b>Relative Amount</b>	<b>Half Life<sup>b)</sup> (days)</b>	<b>Relative Effect</b>
H <sub>2</sub> O	1.0	12	1
Histones	1.1 <sup>a)</sup>	223	20
Non-Histone Proteins	3.3	8	2

<sup>a)</sup> This will appear only in the progeny of cells which were proliferating at the time of exposure to the tritiated protein diet.

<sup>b)</sup> The values listed for the biological half life of H<sub>2</sub>O, histones and non-histones were obtained from reference No. 1, 7 and 8 resp.

## REFERENCES

1. Tritium and other radionuclide labeled organic compounds incorporated in genetic material. NCRP Report No. 63, National Council on Radiation Production and Measurements, Washington 1979.
2. Vendreley, R. and Vendreley, G., *Experientia* 5, 327, 1949.
3. Allfrey, V., Stern, H., Mirsky, A.E., and Saetren, H., *J. Gen. Physiol.* 35, 529, 1952.
4. Felsenfeld, G., and Hirschmann, S., *J. mol. Biol.* 18, 407, 1965.
5. Commerford, S.L., Carsten, A.L., and Cronkite, E.P., *Radiation Res.* 72, 333, 1977.
6. Thompson, R.C., and Ballou, J.E., *J. Biol. Chem.* 233, 795, 1956.
7. Commerford, S.L., Carsten, A.L., and Cronkite, E.P., *Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.)* 79, 1163, 1982.
8. Duerr, J.A., and Lee, C.T., *J. Neurochem.* 23, 531, 1974.
9. Commerford, S.L., Carsten, A.L., and Cronkite, E.P., *Radiat. Res.*, in Press.
10. Commerford, S.L., Carsten, a.L., and Cronkite, E.P., *Radiat. Res.*, submitted.
11. Pine, M.J., and Schimke, R.T., in *Protein Turnover and Lysosome Function*, Ed. H.L. Segal and D.J. Doyle, Academic Press, New York, 1968.
12. Chow, K., and Walser, M., *J. Nutrition* 104, 1208, 1974.
13. Slatkin, D.N., and Commerford, S.L., *Health Phys.* 42, 77, 1982.

RESUME.

La plupart du tritium des tissus animaux est présent comme eau et presque tous ces atomes de tritium s'échangent rapidement entre eux et de ce fait deviennent uniformément distribués dans les cellules et tissus. Par conséquent, le rayonnement absorbé par les noyaux des cellules résultant de la décroissance radioactive de ces atomes de tritium est aisément calculé. La plupart du tritium organique est présent sous forme d'acides nucléiques, hydrates de carbone, lipides et protéines. Ce tritium ne s'échange pas et n'est pas uniformément distribué. La détermination du rayonnement absorbé par les noyaux à partir de ce tritium des constituants organiques est beaucoup plus difficile. Les calculs montrent que si l'exposition au tritium se fait via l'eau de boisson, la quantité de tritium organique est petite comparée à la quantité de tritium inorganique et contribue peu au rayonnement absorbé par les noyaux cellulaires. Lorsque l'exposition au tritium se fait via les protéines de la diète, cependant, le niveau du tritium organique excède celui du tritium inorganique et représente la majeure contribution au rayonnement absorbé.

SAMENVATTING.

Het tritium in de weefsels van dieren is meestal aanwezig onder de vorm van water. Deze tritium atomen worden zeer gemakkelijk uitgewisseld waardoor op korte tijd dit tritium homogeen verdeeld wordt in de verschillende weefsels en cellen. Hieruit volgt dat de stralingsdosis waaraan de celkern is blootgesteld tengevolge van het radioactieve verval van deze tritium atomen gemakkelijk kan geschat worden. Organisch gebonden tritium is meestal aanwezig in de weefsels onder de vorm van kernzuren, koolhydraten, vetten en eiwitten, de stralingsdosis waaraan de celkern is blootgesteld tengevolge van de desintegratie van dit organisch gebonden tritium, is moeilijk te schatten. Studies hebben aangetoond dat de concentratie van organisch gebonden tritium klein is ten opzichte van de concentratie aan niet gebonden tritium wanneer de opname van tritium gebeurt langs het drinkwater. In dit geval zal het organisch gebonden tritium weinig bijdragen in de stralingsdosis ontvangen door de celkernen. Het niveau van organisch gebonden tritium overschrijdt echter het niveau aan niet organisch tritium wanneer de opname van tritium gebeurt onder de vorm van getritieerde voedingseiwitten; in dit laatste geval zal het organisch gebonden tritium een belangrijke bijdrage leveren in de stralingsdosis waaraan de celkernen worden blootgesteld.

ZUSAMMENFASSUNG.

Das meiste Tritium in tierischen Geweben ist in Form von Wasser vorhanden und wird fast ausschliesslich rasch untereinander ausgetauscht, so dass es einheitlich über den radioaktiven Zerfall dieser Tritiumatome in Zellkernen absorbierte Strahlung leicht berechnen. Das meiste organische Tritium befindet sich in Nukleinsäuren, Kohlenhydraten, Lipiden und Proteinen.

Dieses Tritium wird nicht ausgetauscht, ist nicht einheitlich verteilt, und die Bestimmung der in Zellkernen absorbierten Strahlung von solchem Tritium ist viel schwieriger. Berechnungen zeigen, dass nach Tritiumexposition im Trinkwasser die Menge organischen Tritiums im Vergleich zu der des Inorganischen gering ist und wenig zur absorbierten Strahlung in den Zellkernen beiträgt. Wenn die Exposition über tritiierte Nahrungsproteine erfolgt, überschreitet die Menge organischen Tritiums die des inorganischen und trägt wesentlich zur absorbierten Strahlung bei.



TRITIUM METABOLISM IN COW'S MILK AFTER ADMINISTRATION OF  
TRITIATED WATER AND OF ORGANICALLY BOUND TRITIUM

Van den Hoek J., Gerber G. and Kirchmann R.

Laboratory of Animal Physiology, Agricultural University, Wageningen,  
The Netherlands, and Department of Radiobiology, Nuclear Energy Centre,  
B-2400 Mol, Belgium.

SUMMARY

Tritium was administered as THO and as organically bound tritium (OBT) to lactating cows. Urine and milk samples were collected and analyzed for tritium content. Plateau levels in milk water and in milk fat, lactose and casein were reached in about 20 days after feeding either THO or OBT. Comparison of the specific activity ( $\text{pCi}^3\text{H/g H}$ ) of the various milk constituents with the specific activity of the body water showed that, after administration of THO, the highest tritium incorporation occurred in lactose (0.58), followed by milk fat (0.36) and casein (0.27). Tritium incorporation in milk dry matter (0.45) is considerably higher than in most tissue components of several mammalian species after continuous ingestion of THO as reported in the literature.

After feeding OBT, the highest tritium incorporation occurred in milk fat and to a lesser extent in casein. Tritium levels in lactose were surprisingly low and the reason for this is not clear. They were similar to those in milk water.

Tritium levels in milk and urine water showed systematic differences during administration of OBT and after this was stopped. There was more tritium in milk water until the last day of OBT feeding and this situation was reversed after this.

INTRODUCTION

Tritium metabolism in different biological systems has been investigated in recent years. In our laboratory, attention has been focused on the study of tritium metabolism in cow's milk, with particular emphasis on the incorporation of tritium into some important organic constituents of milk. By comparing the results of tritium incorporation into milk after administration of tritiated water (THO) and of organically bound tritium (OBT) to experimental animals, it is possible to assess more accurately the differences in

tritium incorporation resulting from these two different sources of tritium. An attempt is made also to explain the differences observed. The results of these studies with some of their most interesting findings will be presented in this publication.

## MATERIALS AND METHODS

Two Frisian cows (cows A and C) were given tritiated water, S.A. of about 19 nCi of tritium per ml, to drink for a period of 25 days. It was known from previous experiments that near steady state conditions for body water in the cow are reached after about three weeks. Table 1 shows details on the daily intake of drinking water and food, milk secretion, urinary and fecal excretion and intake of tritium. It also follows from Table 1 that the fluctuations in tritium activity of the drinking water during the time of administration were very small.

Two other Frisian cows (cows D and H) were given tritiated hay by way of a rumen fistule for a period of 26 and 28 days respectively. Details on the daily intake of water and food, of organically bound tritium (OBT) and of organically bound hydrogen (OBH), and on milk secretion are given in Table 2.

The hay was grown on the facilities of the Nuclear Centre in Mol, Belgium, by spraying grass with THO under a plastic cover. The grass was cut and dried to hay in the open air. The remaining THO was evacuated by drying at 60°C and subsequently in a vacuum stove at 37°C. Distillation of the hay with toluene showed that no activity remained in the liquid phase.

Milk and urine were sampled daily. The water in milk and urine was obtained by distillation in a closed system. Milk fat, lactose, casein and milk dry matter were separated by conventional methods, described elsewhere (1). Milk fat and lactose were pipetted directly into an appropriate counting solution, casein and milk dry matter were combusted in a Packard Sample Oxydizer and the activity determined subsequently. Counting was carried out in a Nuclear Chicago Mark I liquid scintillation counter.

### 1. Tritium in milk constituents after administration of THO.

Tritium was found not only in milk water but also in milk fat, casein and lactose, indicating tritium incorporation from THO into organic material.

Steady state conditions were reached within three weeks after the onset of THO administration.

The best way of describing the measure of tritium incorporation into a compound is by comparing the specific activity (S.A.:  $\text{pCi}^3\text{H/g H}$ ) of that compound with the S.A. of its precursor(s). Values for this ratio between the S.A. of organic milk constituents and of milk water, and those of drinking water, of total ingested water and of tissue water, for the period of apparent steady state, are given in Table 1. The values in the last column take into account all the "dilution" processes by which non-tritiated water is introduced in the body water pool, and they may be considered the best estimate of tritium incorporation under conditions of continuous intake of THO.

The figures in Table 3 show that the highest incorporation of tritium into organic material of milk occurs in lactose and the lowest in casein. According to reports in the literature (2), the ratio for various tissues of rats and mice generally ranged from 0.20-0.33. Values around 0.20 were found for organs and tissues of calves (3). Comparison of these figures with the value for milk dry matter (Table 1) shows that incorporation of tritium into milk dry matter is clearly higher than in the organs and body tissues of the mice, rats and calves mentioned above.

It is interesting to compare the ratio value for lactose with the value of 0.56 for the S.A. of carbon-bound liver glycogen of mice (4). Glucose is the only precursor of both lactose and liver glycogen. The similarity of the two ratio values suggests that the pathways for the incorporation of tritium into glucose are similar in cows and mice. One would not expect this in view of the important differences in carbohydrate metabolism between monogastric and polygastric animals. In the latter, little, if any, free glucose reaches the small intestine.

## 2. Tritium in milk constituents after administration of OBT.

As could be expected, tritium appeared to have been incorporated in all of the organic milk components studied but in different concentrations. The milk water also contained tritium.

Since the hay containing the OBT, had been homogeneously labelled, it is obvious that several pools of OBT are present in the hay itself, and this number may become still greater after digestion of the food in (fore)stom-

achs and intestine. The consequences of this situation are that the actual incorporation of tritium cannot be determined by comparing the S.A. of precursor and compound as was done in the THO experiment since it is impossible to separate the various precursor pools of OBT and to calculate their specific activities.

Table 4 shows the average tritium activity in milk components at steady state for the two cows. There is considerable incorporation of tritium in milk fat and to a lesser extent in casein. Tritium levels in lactose were surprisingly low. The reason for this is not clear. Since propionic acid is the precursor of lactose via gluconeogenesis, there is apparently a considerable exchange with stable hydrogen during the formation of propionic acid from carbohydrates in the rumen as a result of fermentation processes. When roughage is the predominant food, 70-100% of propionic acid is formed through the dicarboxylic acid pathway (5). Milk fat of the cow consists for about 25-30% of short chain fatty acids (C4-C14) which are synthesized in the mammary gland. Acetate, another volatile fatty acid formed in the rumen from carbohydrates, is their most important precursor. The high tritium incorporation into milk fat indicates that exchange between tritium and hydrogen during acetate formation (from pyruvate) is of much lesser importance if it exists at all. Because of the differences in digestion of carbohydrates between monogastric and polygastric animals, it is unlikely that lactose in the milk of monogastric animals will show similarly low tritium levels after administration of OBT as observed in this experiment. Table 4 also shows the occurrence of tritium in milk water in amounts which are comparable to but somewhat higher than those of lactose. Exchange of  $^3\text{H}$  and H between the water and organic material phase during rumen fermentation may be one of the sources of body water tritium, and combustion of  $^3\text{H}$  containing organic material another.

As shown in Table 4, the differences in tritium activity between the various milk components of cows D and H are considerable. One of the reasons for this is the difference in daily OBT intake between the cows (Table 2). Another could be the fact that cow D received more OBH than cow H because she consumed hay and concentrate (Table 2). The values for tritium activity in milk constituents of cow H have been corrected for the differences in OBT and OBH, and the result of this procedure is shown in the last column of Table 4. The remaining differences in tritium activity of the milk constituents studied are around 12% for milk fat and much less for the others.

Apparently, both the amounts of organically bound tritium and of organically bound hydrogen are the principal factors which determined the differences in tritium levels in the various milk constituents of the cows, studied in this experiment.

The bottom line of Table 4 shows values for the transfer coefficient which is the fraction of daily ingested OBT, secreted in one litre of milk at steady state. As can be seen, dilution with stable OBH is the main reason for the different transfer coefficients of cows D and H. A possible other reason for differences in transfer coefficient values may be differences in milk composition, particularly in milk fat content. Variations in milk fat content between individual cows of the same race, or between animals of different races, are usually greater than is the case for casein and lactose. Also, differences in the composition of the feed consumed by the animal, will be reflected to a greater extent in milk fat concentration. However, these variations in milk fat content are unlikely to affect the transfer of OBT to milk significantly. This is certainly the case for cows of the same race, kept under the same management conditions.

### 3. Differences in tritium content in water of milk and urine.

In the experiments involving the feeding of OBT, distillation of all milk and urine samples was carried out. Comparison of the tritium levels in the water of milk and urine showed that less tritium passed through the epithelial cells of the kidney than through the mammary epithelial cells during the administration of OBT, and that this situation was reversed after the feeding of OBT was stopped. The phenomenon was observed in both cows, and Figure 1 shows the results for cow H. The average difference in tritium levels in the water of milk and urine is 4% during the phase preceding steady state, 2% during steady state and again 2% after the feeding of OBT was stopped.

Obviously, this phenomenon does not have any radiobiological significance. However, it is interesting from the physiological point of view, and it may be related to the function of the kidney in water regulation. If this is the case, then milk water tritium levels reflect more closely those in body water than do tritium levels in urine water. The kidney would be capable of retaining tritium a little better than hydrogen, thus causing discrimination between tritium and hydrogen across a liquid-liquid boundary.

	Cow A	Cow C
Weight , kg	623	550
Drinking water, l/24h	46.4	46.9
Food water, l/24h	2.6	2.5
Concentrate, kg/24h*	11	10
Hay, kg/24h*	8	8
Milk production, l/24h	18.6	23.1
Urine, l/24h	19.8	22.1
Faeces, kg/24h*	35.8	29.5
Av. <sup>3</sup> H act. drinking H <sub>2</sub> O, nCi/ml	18.8±0.16	19.0±0.36

\*Wet weight.

Table 1. Details on intake and excretion of the experimental animals during the 25 day experimental period.

	Cow D	Cow H
Weight, kg	546	566
Drinking water, l/24h	34.9	50.8
Hay, kg/24h <sup>1)</sup>	9.8	12.1
Concentrate, kg/24h <sup>1)</sup>	6.6	—
Milk production, l/24h	14.1	9.2
Av. daily <sup>3</sup> H (OBT) <sup>2)</sup> intake, $\mu$ Ci	34.8	330.2
Av. daily H (OBH) <sup>3)</sup> intake, g	989.2	761.8

<sup>1)</sup>Wet weight    <sup>2)</sup>OBT: Organically Bound Tritium

<sup>3)</sup>OBH: Organically Bound Hydrogen

Table 2. Details on intake and milk secretion of the cows during the experimental period.

Milk Constituent	Cow A	Cow C	Cow A	Cow C	Cow A	Cow C
	(a)	(a)	(b)	(b)	(c)	(c)
Milk Dry Matter	0.37	0.39	0.39	0.41	0.45	0.46
Milk Fat	0.29	0.31	0.31	0.32	0.36	0.37
Lactose	0.48	0.49	0.51	0.52	0.58	0.59
Casein	0.23	0.22	0.24	0.23	0.28	0.27
Milk Water	0.82	0.84	0.87	0.88	1.00	1.00

Table 3. The average ratio's between the specific activities (S.A.  $\text{-pCi}^3\text{H/gH}$ ) for organic milk constituents and for milk water, and (a) drinking water, (b) total ingested water and (c) tissue water, for the period of apparent steady state conditions (day 19 - day 26).



	Cow D	Cow H	Corrected <sup>1)</sup> values Cow H
Milk Fat	3281	45567	3698
Casein	1326	17918	1454
Lactose	200	2641	214
Milk H <sub>2</sub> O	251	3071	249
Transfer Coefficient (%) <sup>2)</sup>	1.17	1.58	1.22

<sup>1)</sup>Corrections made for differences in ingested radioactivity and in ingested OBH (Table 2).

<sup>2)</sup>The transfer coefficient is the percentage of daily ingested OBH, secreted in one litre of milk at steady state.

Table 4. The average tritium activity in milk constituents (pCi <sup>3</sup>H/g of dry matter) during steady state and the transfer coefficient to milk after feeding OBH to two cows for 26 and 28 days respectively.

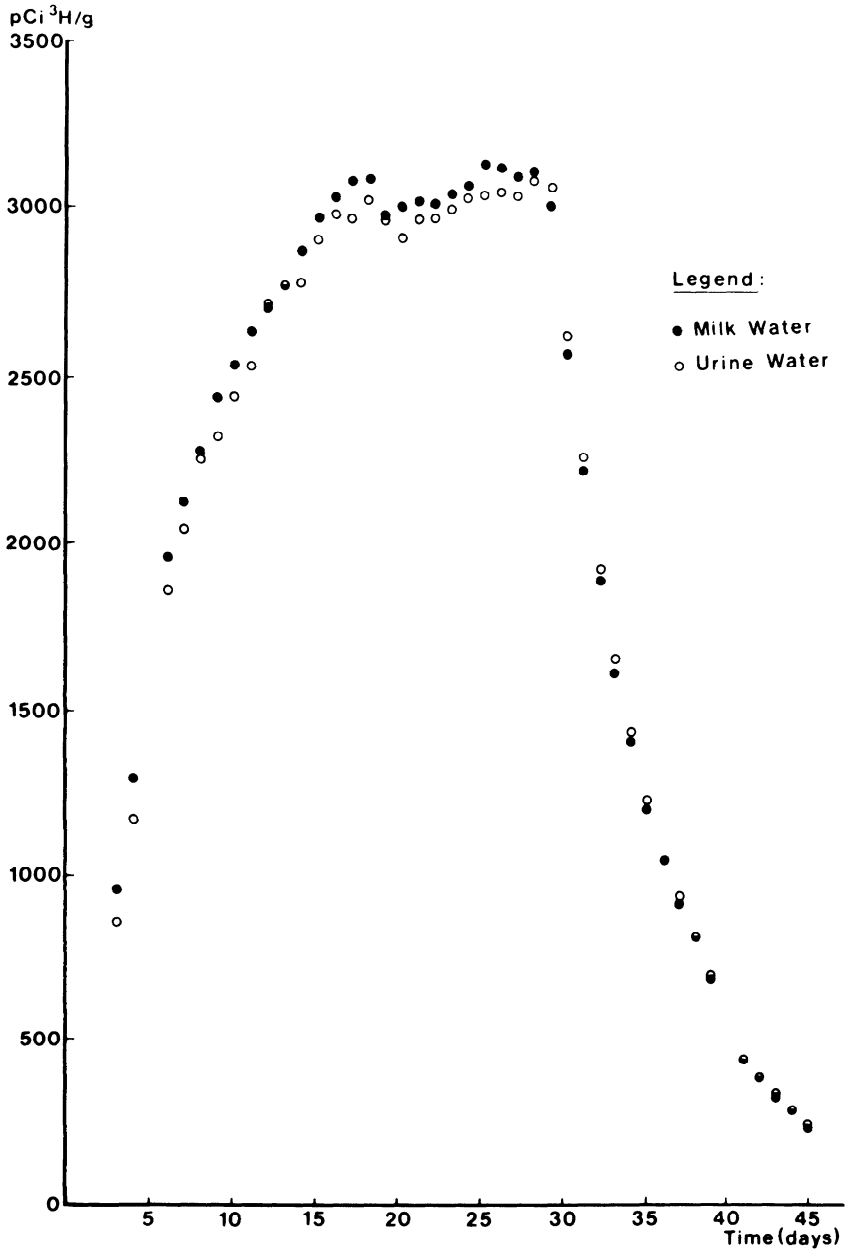


Fig.1. Tritium content in the water of milk and urine of cow H during and after feeding of OBT.

## REFERENCES:

- (1) VAN DEN HOEK, J. and GERBER, G., The metabolism of tritium and of water in the lactating dairy cow. Health Phys. In press.
- (2) HATCH, F.T. and MAZRIMAS, J.A., Titration of animals from tritiated water, Rad. Res. 50 (1972) 339.
- (3) KIRCHMANN, R. et al., Distribution of tritium in the different organs of calves and pigs after ingestion of various tritiated feeds, Curr. Top. Rad. Res. Quart., 12 (1977) 291.
- (4) COMMERFORD, S.L., CARSTEN, A.L. and CONKRITE, E.P., The distribution of tritium in the glycogen, hemoglobin and chromatin of mice receiving tritium in their drinking water, Rad. Res., 72 (1977) 333.
- (5) PRINS, R.A., Some microbiological and biochemical aspects of rumen metabolism, Ph. D. Thesis (1967) State University of Utrecht.

Work supported by the Commission of the E.E.C. under contract no. 237-76-7 BioN of the Radiation Protection Program (publication no. Bio/1910).

RESUME.

Du tritium a été administré à des vaches en lactation, sous forme de THO et sous forme de tritium lié organiquement (OBT). Des échantillons de lait et d'urine ont été prélevés et analysés afin de déterminer la teneur en  $^3\text{H}$ . Les teneurs en  $^3\text{H}$  dans l'eau du lait, dans la matière grasse, dans le lactose et dans la caséine étaient à l'équilibre 20 jours, environ après l'administration de THO ainsi que de l'OBT. La comparaison de l'activité spécifique (  $\text{pCi}^3\text{H/g H}$  ) de plusieurs composants du lait avec l'activité spécifique de l'eau du lait a montré que, après l'administration de THO, l'incorporation la plus élevée du tritium s'était produite dans le lactose ( 0,58 ), suivie par la matière grasse ( 0,36 ) et par la caséine ( 0,27 ). L'incorporation du tritium dans la matière sèche du lait ( 0,45 ) est nettement plus élevée que dans la plupart des tissus de plusieurs mammifères ayant ingéré en continu du THO, selon les résultats rapportés dans la littérature.

Après administration d'OBT, l'incorporation la plus élevée du tritium s'est produite dans la matière grasse du lait et dans la caséine mais à un moindre degré. La teneur en tritium dans le lactose était basse ce qui est difficile à expliquer ; cette teneur était comparable à celle du  $^3\text{H}$  dans l'eau du lait.

Les valeurs du tritium dans l'eau du lait et de l'urine montraient des différences systématiques lors de l'administration d'OBT et après sa cessation. Il y avait plus de tritium dans l'eau du lait jusqu'au dernier jour de l'administration d'OBT. Cette situation s'est inversée après la fin de l'administration d'OBT.

SAMENVATTING.

Tritium werd aan melkgevende koeien toegediend als THO en als organisch gebonden tritium (OBT). Monsters van urine en melk werden verzameld en onderzocht op tritiumgehalte. Plateauwaarden in melkwat en in melkvet, lactose en caseïne werden in ongeveer 20 dagen na toediening van zowel THO als OBT bereikt. Vergelijking van de specifieke activiteit (  $\text{pCi}^3\text{H/g H}$  ) van de verschillende melkbestanddelen met de specifieke activiteit van het lichaamswater toonde aan dat na toediening van THO, de hoogste incorporatie van tritium plaats vond in lactose ( 0,58 ), gevolgd door melkvet (0,36) en caseïne (0,27). Incorporatie van tritium in de droge stof van melk (0,45) is aanzienlijk hoger dan in de meeste weefselbestanddelen van verscheidene zoogdiersoorten na continue toediening van THO zoals deze in de literatuur zijn vermeld.

Na opname door het dier van OBT, vond de hoogste incorporatie van tritium plaats in melkvet en in mindere mate in caseïne. Tritiumgehalten in lactose waren verrassend laag ; de reden hiervoor is niet duidelijk. Zij waren ongeveer gelijk aan die in melkwat.

Tritiumgehalten in het water van melk en van urine lieten systematische verschillen zien tijdens de toediening van OBT en nadat deze was gestopt.

Er was meer tritium in melk water tot en met de laatste dag van toediening van OBT. De toestand was juist omgekeerd na stopzetting van OBT-toediening.

ZUSAMMENFASSUNG.

Tritium wurde als Tritiumwasser oder organisch gebundenes Tritium(OBT) Milchkühen verabfolgt. Urin und Milchproben wurden gesammelt und auf ihre Tritiumaktivität untersucht. Ein Aktivitätsplateau in Milchwasser, MilCHFett, Laktose und Kasein wurde in etwa 20 Tagen bei Gabe von THO oder OBT erreicht. Ein Vergleich der spezifischen Aktivität (pCi 3H/g H) der verschiedenen Milchbestandteile mit der des Körperwassers ergab, dass nach Gabe von THO der Einbau in Laktose (0.58) und Kasein (0.27). Tritiumeinbau in Milchtrockenmasse (0.45) ist wesentlich höher als der, der für die meisten Gewebebestandteile verschiedener Säugetierarten nach kontinuierlicher Gabe von THO berichtet wurde. Nach Fütterung von OBT findet man den höchsten Tritiumaktivitäten in Laktose waren ähnlich denen von THO, und dieser überraschend geringe Einbau ist noch unerklärt. Tritiumaktivitäten in Milch- und Urinwasser zeigten systematische Unterschiede während und nach der Gabe von OBT. Während der Applikation war die Aktivität in Milchwasser höher als in Urinwasser und danach wurde das Umgekehrte beobachtet.

Annales de l'Association Belge de Radioprotection, vol. 7, n° 3-4 (1982).

INCORPORATION OF TRITIUM IN MILK LIPIDS  
AFTER FEEDING ORGANICALLY BOUND TRITIUM TO COWS.

Rochalska M., Van den Hoek J., Kirchmann R., Gerber G.B., Van Bruwaene R.

Centre d'Etudes de l'Energie Nucleaire, Dep. Radiobiology, Mol B-2400, Belgium, and Laboratory of Animal Physiology, Agricultural University, Wageningen, Netherlands.

ABSTRACT.

Hay labeled with organically bound tritium was given to two cows for a period of from 26 to 28 days. During hay feeding and at different times thereafter, lipids (fatty acids, cholesterol, glycerol, choline phospholipids, other phospholipids, glycolipids and gangliosides) were isolated from milk fat, and their total and specific activities were determined. During tritium administration, fatty acids and cholesterol contained the highest total activity, but the specific activity was highest in cholesterol and choline phospholipids. Activity decreased most rapidly for fatty acids and cholesterol, so that at 56 and 182 days after termination of  $^3\text{H}$  feeding, phospholipids and glycolipids made an important contribution to lipid activity in milk. Regression analysis of the values for tritium activity in milk fat samples after stopping tritium administration, showed that three components with different half lives could be distinguished. The differences in metabolic behaviour of the various lipids in milk fat are mainly concerned with their relative participation in these components.

INTRODUCTION.

Biomolecules which have incorporated tritium in organic form often have a much lower turnover than tritiated water. This was shown to be the case also in cows which had been given hay with its organic molecules labeled with tritium. These cows excreted easily detectable amounts of radioactivity in casein and lipids for more than a year (1). Pools of low metabolic turnover, therefore, contribute to the formation of proteins and lipids in milk. In order to evaluate which tritiated compounds are the precursors of these milk constituents, we analyzed the distribution of activity in milk lipids obtained at different times after feeding tritiated hay to lactating cows.

## MATERIALS AND METHODS.

The organic molecules of hay were labeled with tritium by spraying grass with tritiated water during the growing period. The hay was fed to two lactating cows for a period of from 26-28 days. Details on the preparation of the hay, its administration to the experimental animals, on the collection of milk samples and on the experimental cows are given elsewhere (2). Milk samples collected on day 20 of hay feeding and on days 14, 35, 56 and 182 after hay feeding was terminated, were used in the present analysis.

Cream was obtained from fresh milk by centrifugation. Lipids (average content 35 g fat/l milk) were extracted from the alkalinized hot cream with ethanol, diethyl ether and petrol ether (2), dried, redissolved in chloroform-methanol (2:1 v/v) and partitioned against 1/5 volume of 0.1 M KCl (3, 4). No tritium activity could be detected in the water phase containing the ganglioside fraction (about 0.075  $\mu$ mole sialic acid per g of milk fat, most of it present as monosialogangliosides as shown by thin layer chromatography (4, 5)). The organic phase was dried, redissolved in chloroform methanol and chromatographed on an aluminium oxide column (3). The fractions eluted were: a) Neutral lipids with chloroform methanol (98:2, v/v); b) Choline containing phospholipids with chloroform methanol (1:1, v/v); c) Glycolipids with chloroform methanol water (7:7:1); d) Other phospholipids with ethanol chloroform water (5:2:2). All separations were monitored by thin layer chromatography on Merck silica plates using the systems mentioned below and visualized by exposure to iodine vapour. Appropriate standards were cochromatographed.

Neutral lipids were hydrolyzed with methanolic KOH at 65°C for 30 min (6). Cholesterol was extracted with petrol ether and determined by the Lieberman-Burchard reaction (1 mg/g fat) (7). After acidification, fatty acids were extracted with n-pentane, leaving glycerol in the aqueous phase. Amount and composition of fatty acids (145 mg/g fat) were determined by gas chromatography of the methyl esters (6). About 23% of the total fatty acids consisted of short chain (C4-C14) fatty acids, 31% of palmitic acid, 32% of oleic acid, the rest were stearic acid and various unsaturated fatty acids.

Phospholipids containing choline (1.97  $\mu$ mole/g fat) and those without it (8.57  $\mu$ mole/g fat) were determined on the basis of their phosphorous content (7) and separated by TLC chromatography (8) in chloroform acetone methanol acetic acid water (55:22:11:11:2) (thrice) followed by chloroform methanol

ammonium hydroxyde (95:5:0.8) (once). Glycolipids were determined by the resorcinol method with galactose as standard (1.25  $\mu$ mole/g milk fat) (7), and chromatographed in chloroform methanol water (65:25:4). Radioactivity in all fractions was measured in a Packard liquid scintillation spectrometer at a counting efficiency of 25-30%.

## RESULTS AND CONCLUSIONS.

The distribution of tritium activity in the different constituents of milk fat, presented as activity per g of fat, at the different times studied is shown in Table 1. The specific activity, expressed as nCi/mole of hydrogen, is given in Table 2. During the period of hay feeding, most of the  $^3\text{H}$  activity in milk lipids occurs in fatty acids and cholesterol. After 56 days, tritium activity is found predominantly in cholesterol, and tritium content in glycolipids and phospholipids occupies a relatively large part of the total organic tritium activity. This trend continues until 182 days, but the data are less reliable due to the low activities involved.

During administration of tritiated hay, the specific activity is highest in cholesterol followed by choline phospholipids, glycolipids, non-choline phospholipids and fatty acids. Specific activity in glycerol could not be measured directly, but, from the measured amount of fatty acids, it can be estimated to be at least about that of fatty acids. No activity is found in gangliosides although it would have been detectable if the specific activity of gangliosides were comparable to that of non-choline phospholipids. In general, the compounds which show the highest specific activity levels during tritium administration are also those from which activity is lost most rapidly after termination of tritiated hay feeding; fatty acids seem to be an exception since their specific activity is relatively low, probably as a result of the greater metabolic dilution in this pool.

Data are not sufficiently accurate to determine exact half lives. An activity versus time curve suggests, however, that all lipid fractions are composed of more than one metabolic component. The more rapid one has a half life of about 5 days for cholesterol and fatty acids and of about 10 days for phospho- and glycolipids. The component of slow turnover has a half life of the order of 70-100 days and represents 0.5-1% of the total activity for fatty acids, 2-3% of that for cholesterol and about 10-20% for phospholipids and glycolipids.

The results of the present experiment thus demonstrate that pools of



Long half life exist in the body of the cow from which lipids, particularly phospholipids and glycolipids in milk are derived. Since dilution of these compounds with non-radioactive lipids would be small in children and since incorporation into long-lived biological structures seems possible, they may be important in the evaluation of the hazards resulting from tritium exposure. The present data also contribute to our knowledge on the physiology of lactation since they suggest that, in contrast to the readily metabolized triglycerides, phospholipids and glycolipids and, to a smaller extent, cholesterol may be derived from pools outside the mammary gland. The question whether or not these lipids have been synthesized outside the mammary gland, could be answered when the fatty acid constituents of these lipids were found to have the same specific activity as the fatty acids of the milk triglycerides. This analysis was impossible in the present study due to the low activities involved but will be carried out at a later stage. Moreover it will then be possible to determine where in the body such pools of low turnover could be located.

This work was supported by Contract 236-77-11-BIOB of the Radiation Protection Program of the European Communities (publication no. 1908).

#### REFERENCES:

- (1) VAN DEN HOEK J., GERBER G.B., Ann. Meet. Europ. Soc. Radiobiol., Bordeaux, 1982 and Health Phys. in preparation.
- (2) VAN DEN HOEK J., GERBER G.B., KIRCHMANN R., This journal.
- (3) RADIN N.S., Methods in Enzymology, vol. XIV, S.P. Colowick, N.O. Kaplan, p. 245 Acad. Press, New York 1969.
- (4) KANFER J.N., Methods in Enzymology, vol. XIV, S.P. Colowick, N.O. Kaplan, p. 660 Acad. Press, New York 1957.
- (5) ANDO S., CHANG N., YU R.K., Anal. Biochem. 89 4337 1978.
- (6) ACKMAN R.G., Methods in Enzymology, vol. XIV, S.P. Colowick, N.O. Kaplan, p. 329, Acad. Press, New York 1957.
- (7) DITTMER J.C., WELLS M.A., Methods in Enzymology, vol. XIV, S.P. Colowick, N.O. Kaplan, p. 482 Acad. Press, New York 1957.

Compound	At Steady State	Days after Termination of Feeding <sup>3</sup> H Hay			
		14	35	56	182
Neutral Lipids	29.8 ± 3.4	0.63 ± 0.03	0.13 ± 0.01	0.081 ± 0.001	0.004
Fatty Acids	17.0 ± 1.4	0.31 ± 0.09	0.0085 ± 0.005	0.023 ± 0.002	0.0028
Glycerol	2.69 ± 0.34	0.08	N.D.	N.D.	N.D.
Cholesterol	9.51 ± 1.87	0.24 ± 0.02	0.055 ± 0.005	0.04 ± 0.007	0.0008
Choline Phos_ pholipids	0.53 ± 0.19	0.17 ± 0.005	0.055 ± 0.005	0.024 ± 0.001	0.0045
Other Phos_ pholipids	0.50 ± 0.25	0.13 ± 0.02	0.085 ± 0.005	0.007 ± 0.0005	0.022
Glycolipids	0.26 ± 0.22	0.11 ± 0.02	0.02 ± 0.01	0.012 ± 0.001	0.035

Table 1. Tritium activity, expressed as nCi <sup>3</sup>H/g of milk fat (Mean ± 1 S.E.), in various components of milk fat from milk samples taken at steady state and at different times after termination of feeding tritiated hay to a lactating cow.

Compound	At Steady State	Days after Termination of Feeding <sup>3</sup> H Hay			
		14	35	56	182
Fatty Acids	1390±260	17 ± 6	4.6±0.5	1.2	0.5
Cholesterol	57000±8000	2300 ± 70	440±20	380±40	7.9
Choline Phos. pholipids	29700±90	8100 ±270	2250±450	990±100	220
Other Phos. pholipids	5000±2000	1000	1250 ±250	60 ±10	—
Glycolipids	26000±8000	10000±2000	2000	950 ±50	—

Table 2. Specific activity of tritium, expressed as nCi <sup>3</sup>H/mole H (Mean±1 S.E.), in various components of milk fat from milk samples taken at steady state and at different times after termination of feeding tritiated hay to a lactating cow.

RESUME.

Du foin marqué par du tritium lié organiquement, a été administré à deux vaches en lactation durant une période de 26 à 28 jours. Lors de l'administration du foin et ensuite à plusieurs reprises, des constituants de la matière grasse du lait, tels que les acides gras, le cholestérol, le glycérol, les choline phospholipides, les glycolipides et les gangliosides, ont été isolés. Leur activité totale et leur activité spécifique ont été déterminées. Lors de l'administration du tritium, l'activité totale la plus élevée était déterminée dans les acides gras et le cholestérol, tandis que l'activité spécifique la plus élevée était enregistrée dans la choline et dans les choline phospholipides. L'activité a diminué le plus rapidement dans les acides gras et dans le cholestérol si bien que les phospholipides contribuaient d'une façon importante à l'activité dans la matière grasse du lait aux 56<sup>èmes</sup> et 182<sup>èmes</sup> jours après cessation de l'administration du  $^3\text{H}$ .

Une analyse de régression des valeurs d'activité du tritium dans la matière grasse du lait après cessation de l'administration du tritium, a montré que trois composants à demi-vie différente peuvent être distingués. Les différences dans le comportement métabolique des divers composants de la matière grasse du lait sont probablement liées à leur répartition relative dans ces composants.

SAMENVATTING.

Twee melkgevende koeien kregen hooi toegediend dat gemerkt was met organisch gebonden tritium voor een tijdsduur van 26 tot 28 dagen.

Gedurende de toedieningsperiode en op verschillende tijdstippen erna, werden van melkvet bepaalde bestanddelen zoals vetzuren, cholesterol, glycerol, choline phospholipiden, andere phospholipiden, glycolipiden en gangliosiden afgescheiden. Hun totale en specifieke activiteiten werden bepaald. Gedurende de toediening van tritium bevatten vetzuren en cholesterol de hoogste totale activiteit, terwijl de specifieke activiteit het hoogst was in cholesterol en in choline phospholipiden.

De  $^3\text{H}$ -activiteit nam het snelst af in vetzuren en cholesterol zodat op 56 en 182 dagen na beëindiging van  $^3\text{H}$ -toediening, phospholipiden en glycolipiden een belangrijke bijdrage leverden aan de  $^3\text{H}$ -activiteit in melkvet. Een regressie-analyse van de waarden voor tritiumactiviteit in melkvetmonsters na stopzetting van  $^3\text{H}$  toediening, toonde aan dat 3 componenten met verschillende halveringstijden konden worden onderscheiden. De verschillen in stofwisselingsgedrag van de verschillende bestanddelen in melkvet hangen waarschijnlijk samen met de mate waarin zij in deze componenten vertegenwoordigd zijn.

ZUSAMMENFASSUNG.

Heu, das mit organisch gedundenem Tritium markiert war, wurde wei Kühen für einen Zeitraum von 26-28 Tagen verabfolgt. Während der Fütterung und verschiedenen Zeiten danach, wurden Lipide ( Fettsäuren, Cholesterin, Gyzerin, Cholinphospholipide, andere Phospholipide, Glykolipide und Ganglioside ) vom Milchfett isoliert und ihre gesamte und spezifischen Radioaktivitäten bestimmt.

Während der Tritiumadministration fanden sich die höchsten Gesamtaktivitäten in Fettsäuren und Cholesterin, die spezifische Aktivität war jedoch am grössten in Cholesterin und den Cholinphospholipiden.

Die Aktivität in Fettsäuren und Cholesterin nahm am schnellsten ab, so dass 56 und 182 Tage nach Beendigung der Tritiumgabe Phospholipide und Glykolipide einen wesentlichen Anteil zur Aktivität der Milchfette beisteuerten.

Eine Regressionsanalyse der Abnahme der verschiedenen Milchfettbestandteile zeigte drei Komponenten mit verschiedenen Halbwertszeiten. Die Unterschiede im Stoffwechsel der verschiedenen Milchlipide beruhen hauptsächlich auf der relativen Beteiligung der einzelnen Lipide in diesen Komponenten.

Annales de l'Association Belge de Radioprotection, vol. 7, n°3-4 (1982)

INVESTIGATION ON THE DISTRIBUTION OF TRITIUM AND CARBON-14  
IN THE AMINO ACIDS OF LABELED GREEN ALGAE (SCENEDESMUS  
QUADRICAUDA ssp.)

E.Nürnbergger, E.Clausen, G.Kistner

Institute for Radiation Hygiene of the Federal Health Office  
D-8042 Neuherberg

Green algae (*Scenedesmus quadricauda* ssp. *subspicatus*), labeled twice with tritium and carbon-14, showed an incorporation of nuclides into the cell mass of 0,02% and 95%, respectively. The distribution of radioactivity in the individual amino acids was examined in a protein fraction with special emphasis on the essential amino acids in view of their following incorporation into the next link of the aquatic food chain (*Daphnia*). The highest values were found in glutamine- and asparagine acids as well as in the essential amino acids leucine and arginine, which are amino acids with a relatively high amount of non exchangeable H-positions per molecule and therefore a relatively high and stable labeling.

### 1. Introduction

On hand of the model of the aquatic food chain green algae-daphnia-fish the attempt is made to determine the extent of the fixation of radioactivity when incorporating tritiated water and C-14-O<sub>2</sub> dissolved in water into the organic substance via the photosynthesizing primary producer algae, since this may well be of importance for the radiation exposure of the following links in the food chain extending up to man.

In this context, the distribution of radioactivity in the amino acids of a protein fraction of twice labeled green algae of the strain *Scenedesmus quadricauda* ssp. was examined. Algae were cultivated in batch-system in a medium which was contaminated by tritium and C-14-sodium bicarbonate.

### 2. Material and Methods

Organism: *Scenedesmus quadricauda* ssp. *subspicatus*, a laboratory strain from the Institute for Water- Soil- and Air

Hygiene of the Federal Health Office in Berlin.

Medium: Holm-Hansen (6), modified:

0,07%  $\text{NaNO}_3$ , 0,006%  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 0,01%  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0,004%  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , one aliquot  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ /EDTA-solution and tracer elements. An additive of 30 mg/l ampicillin to keep the culture sterile; after autoclaving 3,5 g/l  $\text{NaHCO}_3$  and 50 mCi tritium water and 5  $\mu\text{Ci}$   $\text{NaH}^{14}\text{CO}_3$  (sterile filtered) were added.

Cultivation were carried out in a 5-l-fermenter in batch-system under constant illumination, a temperature of 27°C and a culture time of 120 hours.

Protein extraction: From several possible methods (7) for cell wall desintegration, the supersonic method (5) was used combined with 0,1N NaOH and mercapto ethanol. Protein was precipitated with 1 N HCl at pH 3,5, chlorophyll was removed by ethanol/ether treatment. The amino acid mixture yielded by HCl-hydrolysis (6 N HCl, 110°C, 24 h, additive of phenol and mercapto-ethanol) (1) was subsequently fractionated by column chromatography.

Ion-exchange-chromatography: A highly acid cation exchanging substance was used as carrier and the individual amino acid fractions were eluated by different buffers (Table 1).

pH-values of buffers	eluated amino acids
3,25	Asp,Thr,Ser,Glu,Pro,Gly
4,25	Ala,Val,Ile,Leu
7	Tyr,Phe
10	His,Lys,Arg

Table 1: pH-values of buffers for the eluation of different amino acids by ion-exchange chromatography

Determination of activity: The radioactivity in the individual amino acid fractions was determined in a liquid-scintillation spectrometer.

### 3. Results

After 120 hours of growth in a contaminated medium the algae dry substance yielded by centrifugation and lyophyllisation showed an incorporation of 0,02% tritium and 95% carbon-14. Since the discrimination of isotopes from C-14 to C-12 proved to be relatively low and negligible small in comparison to the tritium discrimination (2), the carbon-14 activity served as a reference quantity for the tritium concentrations assuming that the measured amount of C-14 is equal to the actual concentration of carbon atoms of the examined substance. Since in amino acids not all H-positions are stable - which may lead to a loss of tritium in the labeled molecules - the activity values measured had to be corrected accordingly (Table 2).

### 4. Discussion

A concentration of radioactivity may occur in molecules with very stable C-H-positions (3,4) and the portion of tritium which is bound and stable in the amino acids seems to undergo no essential change after their incorporation into proteins (2) and thus is passed on to the food chain. Therefore, for heterotrophic organisms which absorb these proteins as food, an increased radiation exposure may occur that is of particular importance in essential amino acids and the following metabolic pathways leading to the nucleic acids. In fact, leucine and arginine showed the highest activities per molecule in the examined protein fraction next to asparagine- and glutamine acids.

Furthermore, it is entirely possible that portions of radioactive labeled molecules are incorporated via aspartate and glutamine into purine- and pyrimidinribonucleotides which process may have consequences for DNA and the structure of the genetic material.



Amino acids	H <sub>ne</sub> /C	T pCi/ml	C-14 pCi/ml	T/C-14	T/C-14:H <sub>ne</sub> /C
aspartate	1:4-3:4 <sup>+</sup>	3,8	7,5	0,5	0,7-2
threonine	5:4	2,1	1,8	1,2	0,9
serine	3:3	1,8	2,3	0,8	0,8
glutamate	3:5-5:5 <sup>+</sup>	8,4	6,9	1,2	1,2-2
proline	7:5	2,1	1,8	1,2	0,8
glycine	2:2	4,5	5,1	0,9	0,9
alanine	4:3	4,0	3,9	1,0	0,8
valine	8:5	2,0	2,0	1,0	0,6
isoleucine	10:6	3,4	2,4	1,4	0,9
leucine	10:6	8,6	5,3	1,6	1,0
tyrosine	5:9 <sup>+</sup>	0,9	2,5	0,4	0,6
phenylalanine	8:9	3,4	6,1	0,6	0,6
histidine	4:6-5:6 <sup>+</sup>	1,0	3,3	0,3	0,4-0,5
lysine	9:6	3,3	3,5	0,9	0,6
arginine	7:6	4,6	3,8	1,2	1,0

<sup>+</sup>) Unstable H-positions: in acid solution: asp = up to 2, glu = up to 2, tyr = up to 2; in alkaline sol.: his = up to 1

H<sub>ne</sub>/C = non exchangeable H-positions per C-atom in each molecule  
T = activity of tritium in amino acids  
C-14 = activity of carbon-14 in amino acids  
T/C-14 = rate of tritium to carbon-14 in amino acids  
T/C-14 : H<sub>ne</sub>/C = rate of specific tritium activity to specific C-14 activity in amino acids (in algae nearly 1)

Table 2: Distribution of tritium and C-14 in amino acids of proteins from *Scenedesmus quadricauda* ssp. *subspicatus*

## 5. References

- (1) R.L.Hill, *Advance in Protein Chemistry* 20, 1965, p.37
- (2) T.Kanazawa, K.Kanazawa, J.A.Bassham, *Environmental Science & Technology*, Vol.6, No.7, 1972, p.638
- (3) H.P.Meloche, C.T.Monti, W.W.Cleland, *Biochim.&Biophys. Acta*, 480, 1977, p.517
- (4) S.R.Hartshorn, V.J.Shiner, *J.Am.Chem.Soc.* 94, 1972, p.9002
- (5) M.Merkenschlager, K.Schlossman, W.Kurz, *Biochem.Z*, 329, 1957, 332
- (6) S.Strack, *Biokinetische Untersuchungen über organisch gebundenes Tritium in Algenkulturen*. STH-Ber. 2, 1978
- (7) L.V.Venkataraman, S.Shivashankar, *Arch.Hydrobiol./Suppl.* 56, *Algological Studies* 22, 1979, p.114

RESUME.

Des algues vertes (*Scenedesmus quadricauda* ssp. *subspicatus*), doublement marquées au tritium et carbone-14, ont montré une incorporation des nucléides dans la masse cellulaire de 0,02 % et 95 %, respectivement. La distribution de la radioactivité dans les acides aminés individuels a été examinée dans une fraction protéique avec une attention spéciale sur les acides aminés essentiels en vue de leur incorporation dans le maillon suivant de la chaîne alimentaire aquatique (*Daphnies*). Les valeurs les plus élevées ont été trouvées dans la glutamine et l'asparagine ainsi que dans les acides aminés essentiels, leucine et arginine, qui sont des amino-acides ayant une quantité relativement élevée par molécule de positions H non-échangeables, et par conséquent un marquage relativement élevé est stable.

SAMENVATTING.

Een studie met groene algen gemerkt met  $^3\text{H}$  et  $^{14}\text{C}$  heeft aangetoond dat deze twee radionucliden respectievelijk met 0,02% en met 95% in de cel worden ingebouwd. De distributie van de radioactiviteit in de individuele aminozuren van de eiwitfractie werd onderzocht met de nadruk op de essentiële aminozuren met het oog op de incorporatie in de volgende schakel van de zoetwater voedingsketen (*Daphnia*). De belangrijkste concentraties werden gevonden in het glutamine zuur en het asparagine zuur, evenals in de essentiële aminozuren : leucine en arginine.

Deze aminozuren bevatten een relatief grotere hoeveelheid H-ionen in een niet uitwisselbare positie per molekule en daardoor vertonen zij een relatief grotere en stabiele incorporatie.

ZUSAMMENFASSUNG.

Mit Tritium und Kohlenstoff-14 doppelmarkierte Grünalgen *Scenedesmus quadricauda* ssp. *subspicatus* zeigten einen Einbau der Nuklide in die Zellmasse von 0,02% resp. 95%. In einer Proteinfraction wurde die Verteilung der Radioaktivität auf die einzelnen Aminosäuren untersucht, mit besonderem Augenmerk auf die essentiellen Aminosäuren im Hinblick auf deren weiteren Einbau in die nächste Stufe der aquatischen Nahrungskette (*Daphnia*). Die höchsten Werte wurden bei der Glutamin- und der Asparaginsäure, ferner bei den essentiellen Aminosäuren Leucin und Arginin gefunden, den Aminosäuren mit relativ vielen nicht austauschbaren H-Positionen pro Molekül und somit einer relativ festen Markierung.

Annales de l'Association Belge de Radioprotection, vol. 7, n° 3-4 (1982).

ORGANICALLY BOUND TRITIUM AND ITS DISTRIBUTION IN MICE FED ORGANICALLY  
LABELED MILK POWDER

Rochalska M., Van Bruwaene R., Gerber G.B., Kirchmann, R.

Department of Radiobiology, Centre d'Etude de l'Energie Nucléaire,  
B-2400 Mol, Belgium.

Abstract

Mice were given for three weeks milk powder whose organic constituents were labeled with tritium. Different tissue fractions, proteins, nucleic acids, residue, fatty acids, cholesterol, phospholipids, gangliosides and glycolipids, were isolated from organs, and their total and specific activity were determined. Highest specific activities were found in gangliosides and glycolipids and lowest ones in proteins and fatty acids. It is concluded that tritium labeled lipids, particularly the more complex ones, undergo relatively little dilution when they are incorporated into body lipids whereas protein constituents, fatty acids and small molecular size metabolites are diluted to a greater extent. Uptake of tritium organically bound to lipids, particularly during development, may thus represent a critical pathway in the risk from organically bound tritium in food.

Introduction

In the course of studies dealing with the transfer of organically bound tritium activity to mice during pregnancy we noted (1) that the specific activity in organs approached that of the milk powder fed. This observation suggests that tritium organically bound in certain constituents of milk powder is utilized to a greater extent for the synthesis of organic tissue constituents than hydrogen originating from other organic sources in the food. It seemed of interest, therefore, to identify the preferentially labeled tritiated tissue compounds in the mouse and to relate them to the activity distribution in the milk powder fed.

## Material and Methods

Milk powder was obtained from the milk of a cow which had been fed partially dried hay (2). It had an average specific activity of 13.8 nCi/g. The specific activity of the fat, representing 3.5 % of the total amount was 20.3 nCi/g, that of casein (2.8 %) was 10.5 nCi/g, that of albumin (0.7 %) was 8.3 nCi/g and that of lactose (5.5 %) was 3.8 nCi/g. The milk powder was well mixed at a ratio of 1/1 with standard rat food and dried to give pellets. The radioactive food was given to female BALB/c mice (weight about 20 g) for a period of 3 weeks. The total tritium activity ingested was calculated to be 616 +/- 22 nCi per mouse. At the end of the feeding period, the mice were sacrificed, and liver, kidneys, lungs, brain, small intestine and samples of fat and muscle were removed and homogenized in 20 volumes chloroform methanol (2/1). The extract was further separated into different lipid components as described elsewhere (3,4). The residue after removal of the lipids was extracted twice with hot trichloroacetic acid. This fraction contained nucleic acids, glycogen and collagen. Ribonucleic acids were determined by the orcinol method, glycogen by the anthrone. Proteins from the residue were extracted with hot NaOH and determined by the Biuret reaction. The final residue, consisting mainly of elastine etc.. was dried with ethanol ethyl ether, combusted and assayed for radioactivity. All radioactivity measurements were carried out by liquid scintillation spectrometry at an efficiency of 25-30 %.

## Results

The concentrations of the different fractions assayed in mouse organs are presented in table I. It should be pointed out that the separation method was selected to obtain characteristic fractions and not to measure the different constituents with precision ; there values may, therefore, deviate from others obtained by more specific techniques.

Table II presents total activity in organs as well as its distribution among different fractions. It is evident that equilibrium has nearly been attained in the organs except for brain. The high activity level in intestine is explained by the absorption of the radioactive food by this organ. The

distribution of activity differs largely among organs. Heart, lung and kidney have most activity incorporated into proteins. In liver and muscle about one tenth only of the activity is recovered in proteins and about one fifth in lipids. In brain and especially in fat, proteins contribute only little to total activity, but it should be pointed out that recovery of activity in brain was poor. Glycerol contained measurable activities only in fat tissues (3 % of the total).

The specific activities of the different fractions (in  $\mu\text{Ci}/\text{mole}$  hydrogen) are shown in table III. Highest specific activities are found in gangliosides and glycolipids. Cholesterol of fat tissue and choline phospholipids of liver and brain also display relatively high specific activities. The high activity of intestinal phospholipids may reflect the fact that uptake occurred via this organ. On the other hand, the specific activities of fatty acids and particularly of proteins are low. No activity could be detected in the nucleic acid fraction. In lung, heart and kidney, most organic tritium activity is contained in proteins, but in liver, muscle, brain and fat tissue, activity in lipids exceeds that in proteins. A comparison with the composition of the milk powder confirms that activity in lipids is much less diluted than that of other food constituents as it is incorporated into mouse tissues.

This study thus confirms other observations (5,6,7) that the amount of activity incorporated into a given organ and/or into a given constituent depends on the composition of the tritiated food. Milk powder appears to be a particularly efficient precursor for certain lipids and this fact should be considered when evaluating the risk from tritiated food in the developing organism. Further studies will have to deal also with the transfer of tritium from other food constituents.

This work was supported by Contract 236-77-11-BIOB of the Radiation Protection Programme of the European Communities (publication nr 1911).

Table I. Concentrations (Mean  $\pm$  S.E.) of the fractions assayed in different organs of mice.

Fraction	Liver	Muscle	Lungs	Heart	Kidneys	Intestine	Brain	Fat
Proteins (mg/ g)	165 $\pm$ 9	192 $\pm$ 2	242	222	176	179 $\pm$ 3	105	23
TCA extract								
Glycogen (mg/g)	25 $\pm$ 3.5	1.28 $\pm$ 0.24	6.3	27	9.0	N.D.	4.94	N.D.
RNA (mg/g)	70 $\pm$ 1	35.8 $\pm$ 4.6	11	39	17	50 $\pm$ 3	21	N.D.
Fatty Ac. (mg/g)	5.32 $\pm$ 1.84	19 $\pm$ 0.3	23	1.2	6.6	9.1 $\pm$ 0.2	4.7	51
Cholester. (mg/g)	3.23 $\pm$ 0.1	1.64 $\pm$ 0.05	3.8	3.3	1.8	1.4 $\pm$ 0.1	5.4	1.3
Chol. P.L. ( $\mu$ mole P/g)	1.86 $\pm$ 0.25	3.0 $\pm$ 0.4	4.7	3.17	2.0	1.4 $\pm$ 0.04	4.5	1.9
Other P.L. ( $\mu$ mole P/g)	20.4 $\pm$ 2.4	2.9 $\pm$ 0.2	7.0	4.7	15	21 $\pm$ 0.2	9.0	13
Ganglios. ( $\mu$ mole NANA/g)	0.032 $\pm$ 0.001	0.016 $\pm$ 0.001	0.062	0.044	0.16	0.051	0.84	0.036
Glycolip. ( $\mu$ mole gal./g)	1.24 $\pm$ 0.02	0.91 $\pm$ 0.03	6.25	3.78	2.08	0.95 $\pm$ 0.06	3.44	1.57

Table II. Total activities (nCi/g dry tissue) and activity of fractions (% of total activity of dry tissue)  
(Mean  $\pm$  S.E.) in different organs of mice fed tritiated milk powder.

Fraction	Liver	Muscle	Lungs	Heart	Kidneys	Intest.	Brain	Fat
Total (nCi/g)	6.4	6.5	6.4	5.9	7.1	9.4	4.2	13
Proteins	11 $\pm$ 0.2	11 $\pm$ 4.7	45	69	40	40 $\pm$ 0.6	2.6	0.59
Fatty Ac.	20 $\pm$ 3	17.3 $\pm$ 1.9	15	5.4	17	7.8 $\pm$ 1.3	8.9	47
Cholester.	8.9 $\pm$ 2.2	11.6 $\pm$ 2.4	N.D.	N.D.	4.8	3.0 $\pm$ 0.5	6.6	5.25
Chol. P.L.	2.7 $\pm$ 0.2	2.4 $\pm$ 0.2	3.3	N.D.	1.97	7.9 $\pm$ 0.8	7.0	1.43
Other P.L.	8.6 $\pm$ 0.2	9.6 $\pm$ 0.1	N.D.	4.8	6.3	7.3 $\pm$ 0.4	4.85	0.72
Ganglios.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	8.6	5.9 $\pm$ 0.7	7.3	N.D.
Glycolip.	9.9 $\pm$ 2.7	N.D.	7.8	N.D.	1.85	5.8 $\pm$ 0.7	1.32	1.95

Table III. Specific activities ( $\mu\text{Ci}/\text{mole hydrogen}$ ) (Mean  $\pm$  S.E.) of tissue fractions from different organs.

Fraction	Liver	Muscle	Lungs	Heart	Kidneys	Intestine	Fat	Brain
Proteins ( $\times 10^3$ )	20 $\pm$ 1	13 $\pm$ 5	34	52	58	61 $\pm$ 2	32	6.3
Fatty Ac.	0.46 $\pm$ 0.04	0.12 $\pm$ 0.02	0,070	0.38	0,032	0.15 $\pm$ 0,03	0.77	0.25
Cholester.	0.46 $\pm$ 0.11	1.2 $\pm$ 0.19	N.D.	N.D.	0,44	0.34 $\pm$ 0,05	2.8	0.16
Chol. P.L.	2.52 $\pm$ 0.6	1.0 $\pm$ 0.2	1.1	N.D.	1,80	10.0 $\pm$ 0.6	0.58	2.4
Other P.L.	0,82 $\pm$ 0.08	5.4 $\pm$ 0.5	N.D.	1,2	0.75	0.66 $\pm$ 0,05	0.5	0.89
Ganglios.	75	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	180	N.D.	12.5
Glycolip.	18.8 $\pm$ 4.3	N.D.	1.8	N.D.	1,5	12,3 $\pm$ 2,3	11	0.36



## References

- (1) VAN BRUWAENE, R., GERBER, G.B., KIRCHMANN, R. and MAES R., Ann. Assoc. Belge Radioprot., in press.
- (2) KIRCHMANN, R., VAN BRUWAENE, R., Final Report of the Belgian R.D.-Environment, Part 1b (1975-1978) p. 649.
- (3) ROCHALSKA, M., VAN BRUWAENE, R., GERBER, G.B., KIRCHMANN, R., Ann. Assoc. Belge Radioprot., in press.
- (4) Methods in Enzymology, Vol. XIV, S.P. Colowick, N.O. Kaplan, p. 245, Academic Press, New York, 1969.
- (5) FEINENDEGEN, L.E., CRONKITE, E.P., BOND, V.P., Radiat. Environm. Biophys., 18 (1980) 157.
- (6) ROCHALSKA, M., SZOT, Z., Nukleonika, 23 (1978) 1015.
- (7) ROCHALSKA, M., SZOT, Z., Nukleonika, 24 (1979) 1049.

## Résumé

Des souris ont reçu pendant trois semaines une nourriture contenant de la poudre de lait dont les différents constituants contenaient du tritium lié organiquement. Différentes fractions des tissus, protéines, acides nucléiques, résidus, acides gras, cholestérol, phospholipides, gangliosides et glycolipides ont été séparées des organes et leur activité spécifique a été déterminée. Les activités spécifiques les plus élevées sont détectées dans les gangliosides et glycolipides, les plus faibles sont détectées dans les protéines et les acides gras. Les résultats permettent de conclure que les graisses marquées par du tritium organique, surtout les formes les plus complexes, sont relativement peu diluées lors de leur incorporation dans les graisses corporelles. Les constituants protéiques, les acides gras et les métabolites d'un faible poids moléculaire le sont nettement plus. L'ingestion du tritium lié organiquement aux graisses surtout dans une période de croissance peut donc être considérée comme critique, dans l'évaluation du risque provenant de l'ingestion du tritium avec les aliments.

## Samenvatting

Muizen kregen gedurende drie weken voeder dat melkpoeder bevatte waarvan de verschillende bestanddelen gemerkt waren met organisch gebonden tritium. Verschillende weefsel fracties namelijk eiwitten, nucleïne zuren, rest, vetzuren, cholesterol, fosfolipiden, gangliosiden en glycolipiden werden uit de organen geïsoleerd en hun specifieke activiteit werd bepaald. De hoogste specifieke activiteit werd gevonden in de gangliosiden en glycolipiden, de laagste specifieke activiteit werd vastgesteld in de proteïnen en de vetzuren. De resultaten tonen aan dat de vetten gemerkt met organisch gebonden tritium, vooral de meest complexe, relatief weinig verdund worden wanneer zij worden ingebouwd in de lichaamsvetten, terwijl daarentegen eiwitbestanddelen, vetzuren en metaboliëten met een laag moleculair gewicht in grotere mate verdund worden. De opname van tritium organisch gebonden aan vetten, voornamelijk gedurende een periode van groei en ontwikkeling lijkt kritisch te zijn voor het risico voortvloeiend uit organisch gebonden tritium in de voeding.

## Zusammenfassung

Mäuse erhielten für drei Wochen Milchpuder, dessen organische Bestandteile mit Tritium markiert waren. Verschiedene Gewebefractionen (Proteine, Nucleinsäuren, Rest, Fettsäuren, Cholesterin, Phospholipide, Ganglioside und Glykolipide) wurden aus den Organen isoliert und ihre spezifische Aktivität bestimmt. Ganglioside und Glykolipide hatten die höchste, Proteine und Fettsäuren die niederste spezifische Aktivität. Dieser Befund zeigt, dass Lipide, vor allem die komplexeren, beim Einbau in Körperlipide relativ wenig verdünnt werden im Vergleich zu Proteinen und niedermolekularen Bestandteilen. Die Aufnahme von tritiierten Lipiden, insbesondere während der Entwicklung, könnte so kritisch für das Risiko von organisch gebundenem Tritium in der Nahrung sein.

Annales de l'Association Belge de Radioprotection, vol. 7, n° 3-4 (1982)

INCORPORATION AND METABOLISM OF TRITIUM IN PREGNANT MICE AND THEIR OFFSPRING AFTER FEEDING ORGANICALLY LABELED TRITIATED MILK POWDER DURING PREGNANCY.

Van Bruwaene R., Gerber G.B., Kirchmann R., Maes J., Fagniaert E.

Department of Radiobiology, Centre d'Etude de l'Energie Nucléaire, B-2400 Mol, Belgium.

Abstract

Food mixed from equal amounts of organically labeled tritiated milk powder and normal food pellets was given to mice during pregnancy and lactation. At birth, some new-born were swapped with those from non-exposed mothers to compare separately accumulation and metabolism during pregnancy and lactation. Young mice were sacrificed at different times after birth, and tritium activity in different organs was determined. Tritium activity was also determined in maternal organs at various times during and after the 42 days feeding period. The activity per g in some tissues of the young, particularly in fat, exceeded that of the food given, probably as a result of the high activity and low metabolic dilution of the fats in the food. Young mice contaminated during lactation and pregnancy contained still detectible activity at an age of 2 months. Activity was nearly the same in mice receiving tritium only during lactation as in those receiving it also during pregnancy. Dilution was more marked due to rapid growth when tritium application was discontinued at birth. Tritium water was replaced most rapidly, organic tritium in brain turned over most slowly with an additional metabolic component of a half life in the order of 1 month. Organic tritium in liver displayed an intermediate half life.

Introduction

Tritium can be incorporated into organic molecules and then may be replaced much more slowly than tritium water. Such an effect would be particularly important if the tritium is laid down during development. Studies on pigs (1) who had received tritium water during most of their pregnancy indicated that the dose from organic tritium is probably smaller than that from tritium water. The situation may be more serious when the tritium is supplied already in form of organic molecules which are incorporated to a much greater extent (2,3). Information on incorporation of organic tritium in rodents is fragmentary since it had only been given for 8 days of pregnancy in rats and its retention had not been followed beyond birth (4,5).

In the present investigation, we have therefore followed incorporation of organic tritium supplied as milk powder during the entire pregnancy and lactation and have followed its retention up to an age of 2 months.

## Material and Methods

Female mice of the BALB/c strain of about 3 months age were mated over night and, when displaying a vaginal plug were given tritiated food until the end of lactation, 21 days after birth. At birth, some new-borns were swapped with those from mothers which had not received tritiated food. At birth and at different times thereafter as indicated in the figures, young mice were sacrificed, the different organs were removed, weighed and assayed for THO and organically bound tritium radioactivity. Some adult female mice were also sacrificed at the times shown in figure 3.

Tritiated food was prepared by mixing equal amounts of milk powder whose organic constituents were labeled with non-active standard rat food and dried to give pellets. The milk powder had been obtained from the milk of a cow which had eaten partially dried tritiated hay (6). It had an average specific activity of 13.8 nCi/g. The specific activity of the fat, representing 3.5 % of the total amount was 20.3 nCi/g, that of casein (2.8 %) was 10.5 nCi/g, that of albumin (0.7 %) was 8.3 nCi/g and that of lactose (5.5 %) was 3.8 nCi/g.

Daily food intake during pregnancy was 3 g so that about 337 nCi of organic tritium was ingested during the entire pregnancy. During lactation, food intake increases substantially to about 8.5 g and a total of 955 nCi were ingested during this period

## Results and Discussion

Activity in organic constituents of brain and liver and in tritium water as function of time after birth is shown in figure 1 for the litter from mice which received organic tritium during pregnancy and lactation. The activity per g brain and liver at the end of the administration period is about 1.5-1.7 times higher than the average activity per g food given. In other

tissues, activity per g about equal that of food except for fat where it is about 2.5 times higher. This high incorporation probably reflects the fact that lipids in the milk powder have a much higher specific activity than the other constituents and undergo relatively little dilution when incorporated.

Biological half-life (TB  $1/2$ ) of organic tritium in brain is relatively slow (12  $\pm$  3 days) and moreover, includes a component of about 30 % of the total with a half-life of more than 30 days. Liver displays a more rapid metabolism (5.4  $\pm$  0.5 days) and is again composed of two metabolic components. Tritium water has a half-life of 0.9  $\pm$  0.5 days with a second component (about 20 %) of 11  $\pm$  1 days.

Animals which had received tritium only during lactation (figure 2) have about the same specific activities in organs as those who had it received also during pregnancy, whereas animals removed at birth from tritium administration, show a rapid fall in activity to about 15 - 25 % within the first week of life and have not any more detectible activities at weaning. This observation is not surprising if one considers that during lactation body weight increases from about 2 to 10 g and after lactation until an age of 2 months to about 20 g. Organ weights approximately match this increase except for brain which increases its weight during lactation only by about 30 % and not at all anymore afterwards. The data presented have not been corrected for this weight increase. If this is done, it is noted that almost 10 % of the activity present at 21 days in liver and about 25 % of that in brain is still present at an age of 2 months.

Radioactivity in organic matter of the brain of females fed the tritiated food had not attained equilibrium after 21 days feeding as shown by a further increase (figure 3), whereas it remains constant in the organic components of liver and in water. Final activities in the adult are lower than in the new-born, about  $1/4$  and  $2/3$  in brain and liver respectively. They are also smaller for water during postnatal life probably as a result of the more extensive breakdown of organic compounds in growing animals and the large drinking needs of lactating mothers. Organic tritium in adult brain has a half-life of 20  $\pm$  4 days ; in liver, two about equal-sized components with half-lives of 2.0  $\pm$  0.9 and 12  $\pm$  3 days are found. Tritium oxide displays, in addition to a component with half-life of 4.4  $\pm$  1.5

days, another (about 25 %) one with a half-life of about 26 days.

The data demonstrate that organic tritium incorporated during pregnancy and lactation is retained for long periods of time. Additional experiments are now under way to compare incorporation and turnover with those from mice which had received tritium oxide under identical conditions. Eventually other food compositions will also be given since the present milk powder contained a large percentage of metabolic inert fats. All these studies are preliminary to an experiment in which pregnant pigs will receive tritiated food. It is hoped that on this basis one may assess the risk from organically labeled tritium to man during development.

This work was supported by contract 236-77-11-BIOB of the Radiation Protection Programme of the European Communities (publication nr ).

#### References

- (1) VAN BRUWAENE, R., GERBER, G.B., KIRCHMANN, R. and VANKERKOM, J., *Radiat. Res.*, 91 (1982) 124.
- (2) KIRCHMANN, R., VAN DEN HOEK, J. and LAFONTAINE, A., *Health Phys.*, 21 (1971) 61.
- (3) FEINENDEGEN, L.E., CRONKITE, E.P. and BOND, V.P., *Rad. Environm. Biophys.*, 18 (1980) 157.
- (4) ROCHALSKA, M. and SZOT, Z., *Nukleonika*, 21 (1976) 1293.
- (5) ROCHALSKA, M. and SZOT, Z., *Nukleonika*, 23 (1978) 1015.
- (6) KIRCHMANN, R., VAN BRUWAENE, R., Final Report of the Belgian R.D.-Environment, part 1b (1975-1978) p. 649.

Table 1. Parameters of tritium metabolism in different organs of mice.

ORGANS	MOTHERS			YOUNGS								
				PREGNANCY + LACTATION				LACTATION				
	A1	T1	Second component A2 T2	A1	T1	Second component		A1	T1	Second component		
A2						T2	A2			T2	A2	T2
Brain	43 <sub>-4</sub>	27 <sub>+6</sub>	20% ≈ 50 days	150 <sub>+19</sub>	16 <sub>+4</sub>	30% ≈ 30 days	170 <sub>+12</sub>	15 <sub>+3</sub>	30% ≈ 60 days			
Fat	256 <sub>+24</sub>	12 <sub>+2</sub>		250 <sub>+11</sub>	18 <sub>+2</sub>		266 <sub>+30</sub>	9.3 <sub>+2.2</sub>		15% ≈ 60 days		
Lung	100 <sub>+1</sub>	9.2 <sub>+2.2</sub>		81 <sub>+10</sub>	17 <sub>+5</sub>		109 <sub>+5.3</sub>	9.0 <sub>+1.0</sub>				
Muscle	88 <sub>-8</sub>	22 <sub>+5</sub>		136 <sub>+15</sub>	17 <sub>+4</sub>		118 <sub>+12</sub>	14.6 <sub>+3.0</sub>				
Skin	126 <sub>+26</sub>	18 <sub>+8</sub>		180 <sub>+8</sub>	20 <sub>+2</sub>		230 <sub>+28</sub>	11.9 <sub>+3.0</sub>				
Bone	-	-	-	-	92.2 <sub>+9.2</sub>	12.5 <sub>+2.8</sub>	20% ≈ 50 days					
Blood	66 <sub>+45</sub>	40 <sub>+5</sub>		63 <sub>+8</sub>	21 <sub>+6</sub>	69 <sub>+5</sub>	16 <sub>+3</sub>					
Liver	61 <sub>+16</sub>	2.7 <sub>+1.2</sub>	53 <sub>+16</sub> 16 <sub>+4</sub>	170 <sub>+8</sub>	7.4 <sub>+0.9</sub>	156 <sub>+1.7</sub>	4.5 <sub>+0.2</sub>					
Kidney	45 <sub>+13</sub>	3.2 <sub>+1.4</sub>	57 <sub>+13</sub> 19 <sub>+4</sub>	98 <sub>+33</sub>	24 <sub>+19</sub>	120 <sub>+7</sub>	7.5 <sub>+1</sub>					
H <sub>2</sub> O	34 <sub>+6</sub>	6 <sub>+2</sub>	25% ≈ 35 days	77 <sub>+2</sub>	1.2 <sub>+0.7</sub>	14.7 <sub>+1.9</sub> 14.6 <sub>+1.6</sub>	70 <sub>+3</sub>	2.5 <sub>+0.8</sub>	25%	≈ 15 days		

Half-life = turnover time (see table) multiplied with 0,736.

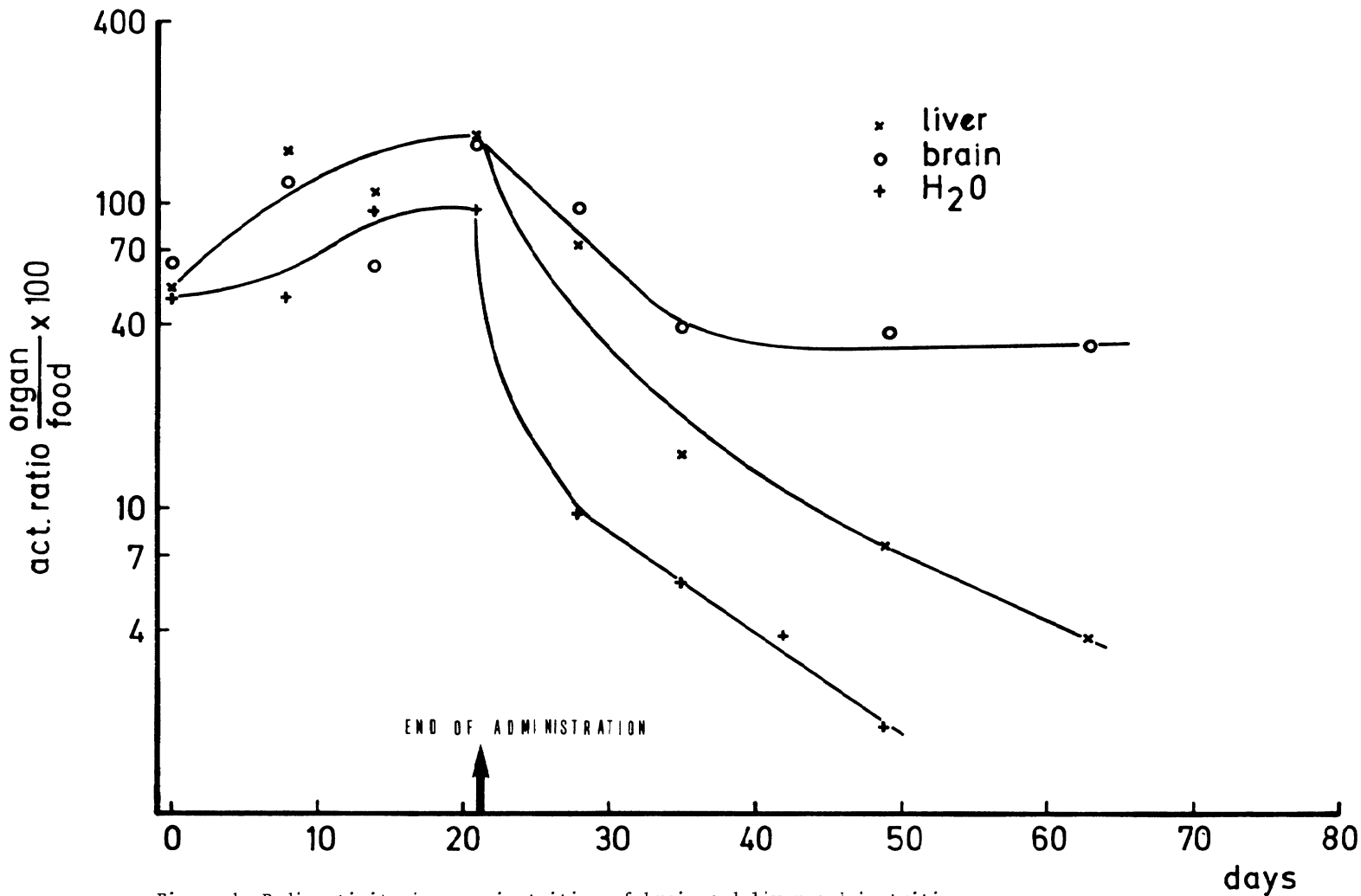


Figure 1. Radioactivity in organic tritium of brain and liver and in tritium oxide as function of time in mice born from mothers which had received tritiated food during the entire pregnancy and lactation.



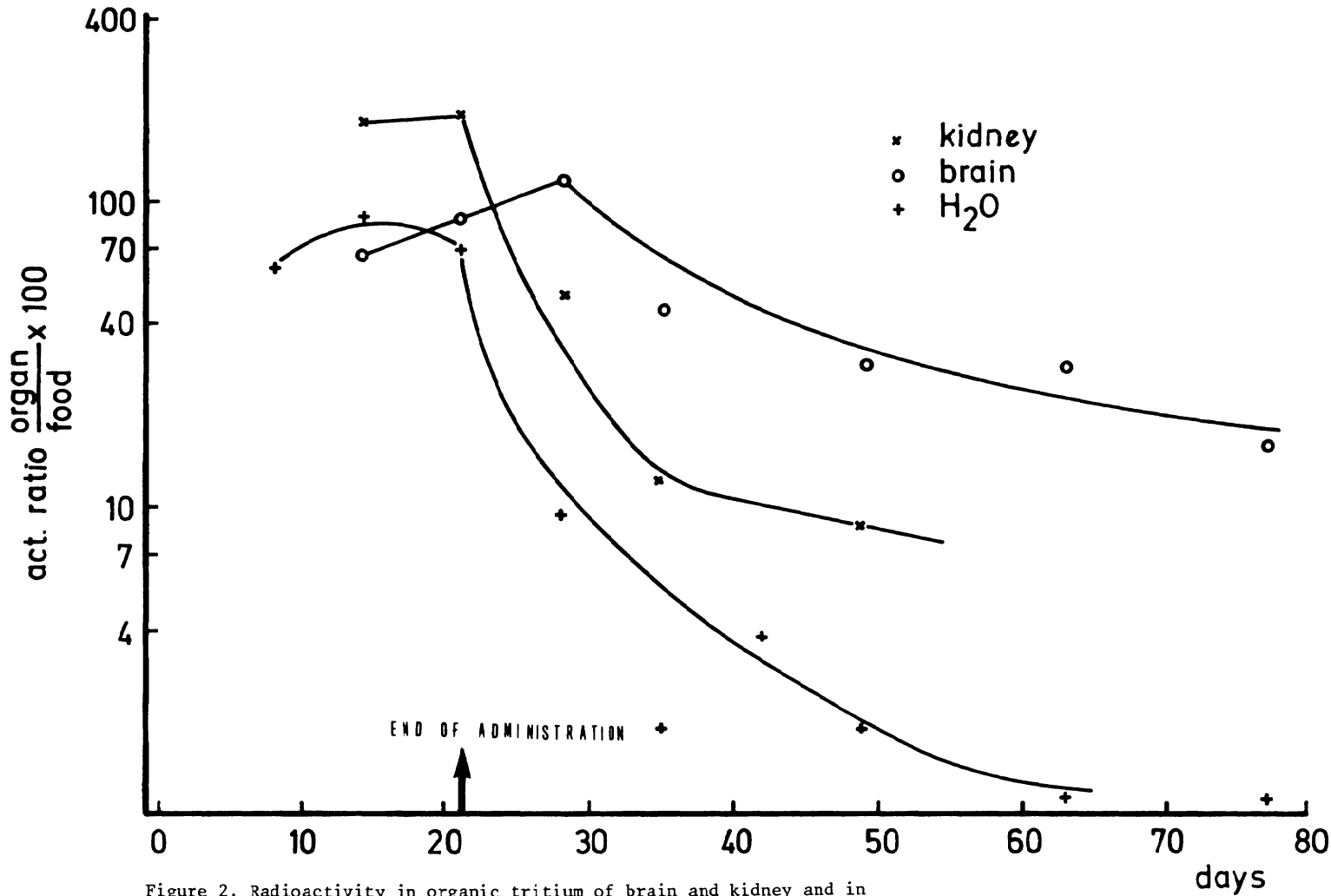


Figure 2. Radioactivity in organic tritium of brain and kidney and in tritium oxide as function of time in mice born from non-contaminated mothers and transferred during lactation to mothers which had received tritiated food during the entire pregnancy and lactation.

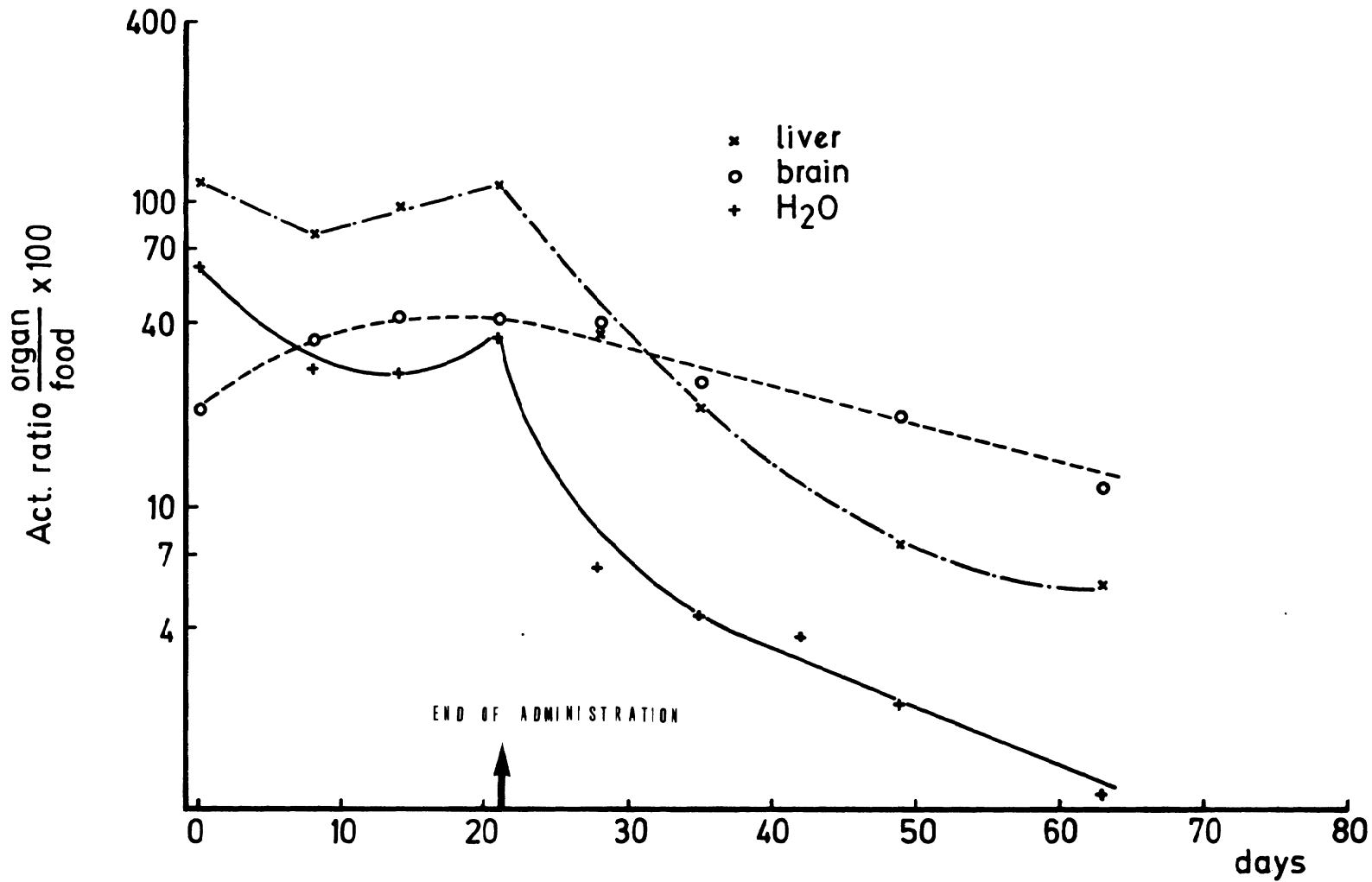


Figure 3. Radioactivity in organic tritium of brain and liver and in tritium oxide as function of time in female adult mice which had received tritiated food for a period of 42 days.

## Résumé

De la nourriture contenant de la poudre de lait tritiée mélangée à la nourriture de rat ordinaire (v/v 1/1) a été administrée pendant la gestation et la lactation à des souris. A la naissance les jeunes provenant de mères contaminées ont été échangés avec les jeunes provenant de mères non contaminées en voie de suivre séparément l'accumulation et le métabolisme du tritium organique pendant la gestation et la lactation. Les mères et les jeunes animaux ont été sacrifiés à différents moments après la naissance, pendant et après les 42 jours de contamination. L'activité du tritium a été déterminée dans les différents organes. Chez les jeunes l'activité, par gramme de matière sèche et plus spécialement dans la graisse, excédait celle de l'aliment administré. Les jeunes souris contaminées pendant la gestation et la lactation contenaient encore de l'activité détectable à l'âge de 2 mois. L'activité observée chez les jeunes contaminés uniquement durant la lactation s'approchait de celle observée chez les jeunes contaminées durant la gestation et la lactation. La décontamination était plus rapide quand la contamination était arrêtée à la naissance, ceci en raison de la croissance rapide après la naissance. Le tritium de l'eau tissulaire était remplacé le plus rapidement ; le tritium lié organiquement dans le cerveau n'est que très lentement métabolisé avec une deuxième composante caractérisée par une demi-vie de l'ordre d'un mois. Le tritium lié organiquement dans le foie a une vitesse de métabolisme intermédiaire.

## Samenvatting

Korrel bestaande uit kommercieel rattenvoeder en melkpoeder gemerkt met organisch gebonden tritium werd toegediend aan muizen gedurende de gestatie- en lactatieperiode. Bij de geboorte werden enerzijds jongen bij hun besmette moeder gelaten en anderzijds werden er jongen van besmette moeders omgewisseld met jongen van niet besmette moeders, om toe te laten de opname en het metabolisme tijdens dracht en lactatie te volgen. Jongen en moeders werden gedood op verschillende tijdstippen na de geboorte, gedurende en na de besmettingsperiode van 42 dagen. De activiteit in het water van de weefsels en in de droge stof van de verschillende weefsels werd bepaald. De activiteit per g droge stof in verschillende weefsels van de jongen en zeker in het vetweefsel, ligt aanzienlijk hoger dan de activiteit vastgesteld in het voeder ; dit resultaat is waarschijnlijk het gevolg van de hoge activiteit en de geringe metabolische verdunning van de vetten aanwezig in het getritieerd melkpoeder. Jonge muizen besmet gedurende de dracht- en lactatieperiode vertoonden nog steeds activiteit op twee maanden leeftijd. De activiteit waargenomen na de besmetting enkel tijdens de lactatie, benadert ongeveer de activiteit waargenomen na besmetting tijdens dracht en lactatie. De decontaminatie was het snelst wanneer de besmetting gestopt werd bij de geboorte en was het gevolg van de snelle groei die deze periode kenmerkt. Het metabolisme van tritium water in de weefsels was het snelst ; het organisch gebonden tritium in de hersenen kende het meest langzame metabolisme gekenmerkt door een tweede komponent met een half-leven van ongeveer 1 maand. Het metabolisme in de lever is gekenmerkt door een intermediair half-leven.

## Zusammenfassung

Nahrung die mit gleichen Teilen organisch gebundenem tritiiertem Milchpuder vermischt war, wurden Mäuse während der Schwangerschaft und Laktation verabfolgt. Bei der Geburt wurden einige Neugeborene mit denen nichtkontaminierter Müttern ausgetauscht um den Einbau während der Schwangerschaft und der Laktation separat zu verfolgen. Die Jungen wurden zu verschiedenen Zeiten nach der Geburt getötet und die Radioaktivität in Organen bestimmt. Tritiumaktivität wurde auch in mütterlichen Organen während und nach der 42 tägigen Fütterungsperiode gemessen. Die Aktivität pro g in einigen Organen der Jungen war grösser als die der Nahrung, vermutlich als Ergebnis der hohen Aktivität der Milchlipide und ihrer geringen Verdünnung im Stoffwechsel. Junge Mäuse, die während der Schwangerschaft und der Laktation kontaminiert worden waren, enthielten noch messbare Aktivität in einem Alter von 2 Monaten. Die Aktivität in Mäusen, die Tritium nur während der Laktation erhalten hatten, war fast dieselbe wie in denen die auch in utero kontaminiert worden war. Die Verdünnung war schneller wegen des raschen Wachstums, wenn die Tritiumgabe bei der Geburt unterbrochen wurde. Am schnellsten wurde Tritiumwasser ersetzt. Organisches Tritium im Gehirn hatte den langsamsten Umsatz und zeigte eine weitere Stoffwechselkomponente mit einer Halbwertszeit von etwa einem Monat. Organisches Tritium in der Leber hatte einen etwas rascheren Stoffwechsel.

Annales de l'Association Belge de Radioprotection, vol. 7, n° 3-4 (1982).

ORGANIC TRITIUM IN BRAIN OF NEW-BORN PIGS FROM MOTHERS WHO HAD RECEIVED TRITIUM WATER DURING PREGNANCY

Rochalska M., Van Bruwaene R., Gerber G.B., Kirchmann R.

Department of Radiobiology, Centre d'Etude de l'Energie Nucléaire, B-2400 Mol, Belgium.

Abstract

Activity of organic tritium after application of tritium oxide is higher and turnover is slower in developing brain than in other organs. This had been demonstrated in an experiment where pregnant sows were given tritium oxide to drink, and the new-borns were either kept for additional exposure during lactation (43 days) or swapped with new-borns from uncontaminated mothers. Analysis of the cerebella of the piglets showed highest activities at birth in fatty acids and cholesterol whereas cerebroside activity increased during lactation. High levels of activity, particularly in fatty acids and cholesterol are still present at an age of 115 days. A large part of lipids and structural material in proteins etc. laid down in brain during development is thus retained for long periods of time. Brain represents therefore, together with the ovary, a critical organ for tritium exposure during development.

Introduction

Earlier studies on the metabolism of tritium oxide given to pregnant sows (1) showed that organically bound tritium accumulates in the brain of new born pigs to a markedly higher degree and has a slower metabolic replacement than in other organs. Other investigations (2) also observed a greater incorporation into organic tritium of brain in rodents, but the compounds responsible for this accumulation have not yet been identified. A knowledge of the type of labeled compounds and their metabolic behavior is needed to assess the hazard from tritium in brain laid down during development. We have, therefore, isolated different fractions from the brain of these pigs.

## Material and Methods

The schedule of contamination and sacrifice has been described in detail (1). In summary, two sows were exposed to two different doses of tritium oxide (4.2 and 13 mCi/day) for the last 77 days of pregnancy and during lactation for 41 days. Some new-borns were swapped with those from a non-contaminated sow of the same age in order to obtain information on loss and uptake of tritium during early postnatal life, others were kept with the exposed mother. The pigs were sacrificed at different times after birth. The exposure conditions, times of sacrifice and activities of organic and inorganic tritium in the brain of the piglets assayed are presented in table I.

The cerebella were removed at the time of sacrifice and kept frozen until assayed. They were homogenized in chloroform methanol, and the extract was partitioned by addition of KCl into an aqueous phase containing gangliosides and an organic phase containing other lipids (3,4). After concentration of the aqueous phase and dialysis against water for 3 x 12 hours, the gangliosides were lyophilized, determined by the resorcinol method (5) and separated by thin layer chromatography on activated Merck silica gel plates using chloroform methanol water (55/45/10 v/v/v) containing 0.02%  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (4,6). Mono-, di- and tri-sialogangliosides obtained from Sigma served as reference substances.

The organic phase was concentrated and chromatographed on an aluminum oxide column (3). The following lipid fractions were obtained: a) Neutral lipids by elution with chloroform methanol (98/2). b) Choline containing phospholipids by elution with chloroform methanol (1/1). c) Cerebrosides and sulfatides by elution with chloroform methanol water (7:7:1). d) Phospholipids not containing choline by elution with ethanol chloroform water (5:2:2). The different fractions were assayed as described earlier (7).

The residue remaining after lipid removal was washed, and nucleic acid, collagen and glycogen were extracted twice with hot 5% trichloroacetic acid (TCA) at 65° for 30 min. The extract was then dialyzed against water and its activity was determined. Ribonucleic acid and glycogen were determined by the orcinol (8) and anthrone methods (9) respectively. The residue from the TCA extract was treated with hot 2% NaOH for 5 min., and the

extract, containing proteins was dialyzed against water, determined by the biuret reaction (10) and counted. The final residue consisting of structural proteins was dried with ethanol and diethyl ether, combusted and counted for radioactivity. All radioactivity measurements were carried by liquid scintillation counting with an efficiency of 20-30%.

## Results and Discussion

The changes with age in the concentrations of the different fractions isolated are presented in table II. It should be pointed out that these values represent only a small number of animals and for a more complete evaluation of the processes of maturation in pig brain would also have to take in account the morphological development. Nevertheless, certain trends are clearly apparent such as the increase in proteins, cholesterol and phospholipids with age. The distribution of organically bound tritium among the different fractions of pig brain is presented in table III and their specific activity is shown in table IV. Activity in total brain (table I) is highest in the animals who have been contaminated during pregnancy and lactation. In animals exposed during both, pregnancy and lactation, activity in proteins and nucleic acids increases until an age of 21 days and then declines although tritium exposure continues until day 43. A similar behavior is seen also in gangliosides and glycolipids whereas the activity in fatty acids, cholesterol and phospholipids declined during the entire postnatal period. From cessation of exposure at day 43 to the last sampling at an age of 115 days, activity in fatty acids did not change greatly, that phospholipids and cerebrosides diminished to about one half and that in the other fractions to about 20-45% of the value at an age of 43 days. After 115 days, specific activity was still highest in fatty acids and cholesterol.

Animals which were removed from exposure immediately after birth retained at an age of 43 days about 1/3 of the activity in the residue and the TCA soluble fraction, about 20% in cholesterol, 15% in gangliosides and 10% in fatty acids. The latter two compounds showed little change in activity between 23 and 43 days. Phospholipids turned over most rapidly,

Pigs which were only exposed during lactation show an incorporation between one half and two third of that which was found in those exposed also during pregnancy in most fractions. Much less tritium is incorporated into fatty acids. A difference is also noted between phospholipids containing choline and others, the latter accumulated relatively more tritium during postnatal life than the former. Most fractions showed a decrease in activity to 10-30% during the period from 43 to 115 days.

The data confirm that certain lipids, proteins and other constituents of the TCA and residual fraction which are formed during fetal or early postnatal life turnover very slowly. Radioactivity in lipids is most likely present in myeline; that in other fractions may be incorporated into structural material in long lived nerve cell or in glia. A quantitative assessment of the hazard of such tritium is difficult since we ignore the exact anatomical sites of tritium deposition and their relation to potentially radiosensitive structures. Perhaps, most of the damage delivered to the brain will occur already during the sensitive phases of brain development. Nevertheless, among all organs, except perhaps the ovary, brain probably receives the largest dose (and damage) during adulthood from tritium incorporated during development. The data presented also yield information on the maturation of pig brain since they relate metabolic activity of different lipid fractions with their content; a more detailed knowledge of the maturation of the different morphological structures would, however, be needed in order to correlate the information on pig brain with the better known situation in developing human and rat brain.

This work was supported by Contract 236-77-11-BIOB of the Radiation Protection Program of the European Communities (publication nr 1909 ).



Table I. Treatment and activities of organic and inorganic tritium of the piglets assayed.

Exposed during	Code	Age at sacrifice (days)	Water nCi/ml	Organic Matter nCi/g
Pregn. and Lactat.	PL0	0	1083	260
	PL21	21	1000	222
	PL43	43 (end cont.)	931	233
	PL115	115	N.D.	81
Pregnancy only	P21	21	124	140
	P43	43	26	102
Lactation only	L43	43	900	173
	L115	115	0.4	49

Table II. Concentrations (Means  $\pm$  S.E.) of the fractions assayed in piglets of different age.

Fraction	At Birth	21 days	43 days	115 days
Proteins (mg/g)	56.0 $\pm$ 2.7	71.2 $\pm$ 6	99.3 $\pm$ 6.5	114 $\pm$ 8
TCA extract				
Glycogen (mg/g)	5.8 $\pm$ 1.8	10.6 $\pm$ 2.0	7.87 $\pm$ 2.7	6.12 $\pm$ 0.90
RNA (mg/g)	12.9 $\pm$ 0.7	25.9 $\pm$ 2.5	15.9 $\pm$ 4.2	11.2 $\pm$ 1.3
Residue (mg/g)	3.35 $\pm$ 0.14	2.6 $\pm$ 0.7	3.8 $\pm$ 0.8	3.9 $\pm$ 1.0
Fatty Ac. (mg/g)	1.59 $\pm$ 0.28	1.96 $\pm$ 0.27	2.32 $\pm$ 0.18	1.84 $\pm$ 0.62
Cholester (mg/g)	15.8 $\pm$ 1.7	16.8 $\pm$ 0.8	26.2 $\pm$ 1.1	27.0 $\pm$ 3.0
Tot. P. Lip. ( $\mu$ mole P/g)	4.29 $\pm$ 0.26	8.7 $\pm$ 1.0	8.2 $\pm$ 0.5	8.4 $\pm$ 0.2
Chol. P. L. ( $\mu$ mole P/g)	0.68 $\pm$ 0.06	3.6 $\pm$ 0.5	3.7 $\pm$ 0.2	2.53 $\pm$ 0.1
Other P.L. ( $\mu$ mole P/g)	3.58 $\pm$ 0.2	5.2 $\pm$ 0.5	4.48 $\pm$ 0.48	5.84 $\pm$ 0.2
Ganglios. ( $\mu$ mole NANA/g)	0.44 $\pm$ 0.12	0.49 $\pm$ 0.1	0.50 $\pm$ 0.06	0.51 $\pm$ 0.06
Cer. Sulf. ( $\mu$ mole gal./g)	1.72 $\pm$ 0.07	1.63 $\pm$ 0.08	1.51 $\pm$ 0.23	1.30 $\pm$ 0.10

Table III. Activity of fractions (% of total activity of dry brain tissue) (Mean) in piglets of different age (for code see table I).

Fraction	PL0	PL21	PL43	PL115	P21	P43	L43	L115
Proteins	2.3	7.6	4.4	4.5	2.0	1.75	2.5	1.30
TCA extract	0.015	0.13	0.03	N.D.	0.03	0.01	0.31	0.03
Residue	1.7	3.6	1.74	2.3	0.94	1.35	2.5	1.08
Fatty Ac.	0.73	0.30	0.28	0.48	0.16	0.22	0.33	0.61
Cholester.	2.88	2.33	4.16	3.71	3.62	2.13	3.27	3.31
Choline P.L.	2.02	3.59	2.33	3.18	1.04	1.11	2.31	2.42
Other P.L.	2.97	5.08	2.33	6.5	4.4	0.51	3.41	0.18
Ganglios.	0.17	0.37	0.14	0.06	0.64	0.08	0.32	0.18
Cerebr.Sulfat.	0.68	2.36	1.46	2.57	1.41	0.75	1.78	0.91

Table IV. Specific activities ( $\mu\text{Ci}/\text{hydrogen mole}$ ) (Mean  $\pm$  S.E.) of organic brain constituents of piglets (for code see table I).

Fraction	PLO	PL21	PL43	PL115	L43	L115	P21	P43
Proteins	1.53 $\pm$ 0.48	3.76 $\pm$ 0.88	1.53 $\pm$ 0.08	0.49 $\pm$ 0.02	0.66 $\pm$ 0.10	0.076 $\pm$ 0.01	0.51 $\pm$ 0.06	0.24 $\pm$ 0.03
TCA extr. ( $\times 10^3$ )	44 $\pm$ 16	147 $\pm$ 22	89 $\pm$ 23	N.D.	330 $\pm$ 120	15	24	16
Residue	1.93 $\pm$ 0.10	3.4 $\pm$ 1.2	1.61 $\pm$ 0.32	0.55 $\pm$ 0.02	1.19 $\pm$ 0.29	0.26 $\pm$ 0.05	0.99	0.68 $\pm$ 0.01
Fatty Ac.	9.8 $\pm$ 0.4	3.28 $\pm$ 0.20	2.54 $\pm$ 0.60	2.68 $\pm$ 0.13	1.8	1.00 $\pm$ 0.15	0.80 $\pm$ 0.07	0.83 $\pm$ 0.01
Glycerol	0.18 $\pm$ 0.02	0.22 $\pm$ 0.08	0.065 $\pm$ 0.002	0.046 $\pm$ 0.008	0.064 $\pm$ 0.011	0.013	0.0069 $\pm$ 0.013	0.0019 $\pm$ 0.001
Cholester.	4.09 $\pm$ 0.1	2.76 $\pm$ 0.14	3.42 $\pm$ 0.05	1.08 $\pm$ 0.05	1.78 $\pm$ 0.13	0.46 $\pm$ 0.13	2.48 $\pm$ 0.37	0.70 $\pm$ 0.03
Total P.L.	0.99 $\pm$ 0.12	0.39 $\pm$ 0.01	0.29 $\pm$ 0.03	0.19 $\pm$ 0.01	0.23 $\pm$ 0.01	0.11 $\pm$ 0.01	0.16 $\pm$ 0.008	0.059 $\pm$ 0.005
Choline P.L.	0.68 $\pm$ 0.08	0.177	0.14 $\pm$ 0.01	0.088 $\pm$ 0.008	0.096 $\pm$ 0.006	0.044 $\pm$ 0.003	0.043 $\pm$ 0.016	0.026 $\pm$ 0.003
Other P.L.	0.22 $\pm$ 0.03	0.197 $\pm$ 0.01	0.14 $\pm$ 0.029	0.089 $\pm$ 0.001	0.12 $\pm$ 0.007	0.058 $\pm$ 0.003	0.13 $\pm$ 0.001	0.011 $\pm$ 0.002
Ganglios.	0.081 $\pm$ 0.0050	0.16 $\pm$ 0.06	0.046 $\pm$ 0.006	0.0088	0.11 $\pm$ 0.04	0.013	0.013 $\pm$ 0.005	0.013 $\pm$ 0.001
Cerebr. Sulfat.	0.10 $\pm$ 0.02	0.33 $\pm$ 0.13	0.26 $\pm$ 0.06	0.16 $\pm$ 0.007	0.16 $\pm$ 0.05	0.035 $\pm$ 0.002	0.12 $\pm$ 0.02	0.058 $\pm$ 0.014

## References

- (1) VAN BRUWAENE, R., GERBER, G.B., KIRCHMANN, R., VANKERKOM, J., Radiat. Res. 91 (1982) 124.
- (2) MAJOR, Z., Int. J. Rad. Biol., 37 (1980) 458.
- (3) RADIN, N.S., Methods in Enzymology Vol.XIV, S.P. Colowick, N.O. Kaplan, p.245, Acad. Press, New York (1969).
- (4) KANFER, J.N., Methods in Enzymology Vol.XIV, S.P. Colowick, N.O. Kaplan, p.660, Acad. Press, New York (1957).
- (5) DITTMER, J.C., WELLS, M.A., Methods in Enzymology Vol.XIV, S.P. Colowick, N.O. Kaplan, p.482, Acad. Press, New York (1957).
- (6) ANDO, S., CHANG, N., YU, R.K., Anal. Biochem., 89 (1978) 4337.
- (7) ROCHALSKA, M., van den HOEK, J., KIRCHMANN, R., GERBER, G.B., van BRUWAENE, R., Ann. Assoc. Belg. Radioprot. in press.
- (8) SCHNEIDER, W.C., Methods in Enzymology Vol.III, S.P. Colowick, N.O. Kaplan, p.680, Acad. Press, New York (1957).
- (9) ASHWELL, G., Methods in Enzymology Vol.III, S.P. Colowick, N.O. Kaplan, p.75 and p.84, Acad. Press, New York (1957).
- (10) LAYNE, E., Methods in Enzymology Vol.III, S.P. Colowick, N.O. Kaplan, p.450, Acad. Press, New York (1957).

## Résumé

Dans le niveau l'activité du tritium après l'administration d'eau tritiée est plus élevée et son métabolisme plus lent que dans les autres organes. Le phénomène est démontré dans une expérience chez des truies en gestation qui ont reçu de l'eau tritiée comme eau de boisson pendant les 77 derniers jours de la gestation. Les nouveau-nés étaient soit d'une part laissés chez leur mère pour une exposition supplémentaire pendant la lactation (43 jours) ou soit d'autre part échangés avec des porcelets provenant d'une mère non-contaminée.

L'analyse du cerveau de l'ensemble de ces animaux démontre que l'activité la plus élevée à la naissance est observée dans les acides gras et le cholestérol tandis que l'activité dans la fraction cérébrosides continue à augmenter pendant la lactation.

L'activité la plus importante est encore présente dans les acides gras et le cholestérol à l'âge de 115 jours. Une partie importante des graisses, protéines et du matériel structurel incorporée dans le cerveau pendant son développement pré- et postnatal est retenue pendant une longue période.

Le cerveau ainsi que les ovaires peuvent être considérés comme les organes critiques lors d'une exposition au tritium durant la période de développement pré- et postnatal.

## Samenvatting

In de hersenen is de activiteit van het organisch gebonden tritium na een toediening van tritium oxide in het drinkwater hoger en zijn métabolisme trager dan in de overige organen.

Dit werd vastgesteld tijdens een proef met drachtige zeugen die tritium toegediend kregen in hun drinkwater gedurende 77 dagen van de drachtperiode. De biggetjes werden enerzijds bij de moeder gelaten voor een bijkomende blootstelling tijdens de lactatie (43 dagen) en anderzijds omgewisseld met de biggetjes van een niet besmette zeug.

Het onderzoek uitgevoerd op de kleine hersenen van deze dieren heeft aangetoond dat de meeste activiteit bij de geboorte gevonden wordt in vetzuren en cholesterol terwijl de activiteit in de cerebrosiden toeneemt tijdens de lactatie. De hoogste activiteits niveaus zijn nog steeds aanwezig in de vetzuren en de cholesterol 115 dagen na de geboorte. Het blijkt dat een groot gedeelte van de vetten, van de eiwitten en van het structuur materiaal vastgelegd in de hersenen in utero en gedurende de eerste levensdagen een traag métabolisme vertoont.

De hersenen samen met de ovaria kunnen beschouwd worden als kritische organen in verband met de blootstelling aan tritium gedurende de pre- en postnatale ontwikkeling.

## Zusammenfassung

Nach Gabe von Tritiumwasser ist die Aktivität organischen Tritiums am höchsten und der Umsatz am langsamsten im Gehirn. Dies wurde in einem Versuch gezeigt, bei dem schwangere Schweine Tritiumwasser zu trinken erhielten, und die Ferkel entweder bei der Mutter zu zusätzlicher Exposition während der Laktation (43 Tage) verblieben oder mit Ferkeln einer unkontaminierter Sau umgewechselt wurden. Die Analyse des Kleinhirns der Ferkel ergab höchste Tritiumaktivitäten bei der Geburt in Fettsäuren und Cholesterin; dagegen nahm die Aktivität in den Cerebrosiden während der Laktation noch zu. Hohe Aktivitäten, besonders in Fettsäuren und Cholesterin sind noch im Alter von 115 Tagen nachweisbar. Ein grosser Teil der während der Gehirnentwicklung gebildeten Lipide, Proteine und anderen Strukturen wird somit für lange Zeit erhalten. Gehirn erscheint daher mit dem Ovar ein kritisches Organ in Bezug auf Tritiumexposition während Entwicklung.