

## OFFRE DE THESE

### **Rôle du biofilm et des plantes dans l'absorption des substances perfluorées : implications pour le diagnostic environnemental des « polluants éternels »**

Financement : Allocation doctorale IMT Mines Alès - Campagne d'attribution des contrats doctoraux établissements de l'Ecole Doctorale GAIA

Dates de la thèse : 36 mois à compter du 01/10/2023

Etablissement / Employeur : IMT Mines Alès

Ecole doctorale : GAIA – Biodiversité, Agriculture, Alimentation, Environnement, Terre, Eau  
<https://gaia.umontpellier.fr/>

Spécialité : STE – Sciences de la Terre et de l'Eau

Unité de recherche : HSM - Hydrosociences Montpellier

Thématique : Polluants organiques et méthodes de surveillance environnementale

Domaine : chimie environnementale

Directeur de thèse : François Lestremau

Co-directrice : Sandrine Bayle

Encadrant : Andres Sauvêtre

**Modalités de candidature** : Les candidatures sont à envoyer par mail à la responsable du Pôle doctorat **et** au Directeur de thèse (coordonnées ci-dessous), en précisant le sujet de thèse et en y joignant les pièces suivantes : CV, lettre de motivation signée portant obligatoirement la mention « Je soussigné(e) Nom, Prénom, certifie sur l'honneur l'exactitude des renseignements fournis dans ce dossier de candidature », notes de Master M1 et M2, pièce d'identité.

Directeur de thèse : Francois Lestremau ([francois.lestremau@mines-ales.fr](mailto:francois.lestremau@mines-ales.fr))

Responsable du Pôle Doctorat : Anne-Catherine Denni ([anne-catherine.denni@mines-ales.fr](mailto:anne-catherine.denni@mines-ales.fr))

**Date limite de candidature** : lundi 15/05/2023 à 17h00

**Peut candidater au concours, tout étudiant titulaire ou en préparation d'un diplôme conférant le grade de Master ou d'un niveau équivalent (Cf. art. 11 de l'arrêté du 25 mai 2016).**

Attention : Seuls les dossiers des candidats validés par le directeur de thèse et complets (voir liste des pièces à fournir) seront examinés lors de la commission d'admissibilité.

Aucun dossier reçu après la fermeture des candidatures, soit le 15/05/2023 après 17h00, ne pourra être retenu.

### **Contexte**

---

La gestion des ressources en eau représente un enjeu sociétal majeur afin de garantir l'accès des populations à l'eau potable, l'utilisation pour les besoins agricoles et industriels et la préservation de la biodiversité. Les milieux aquatiques sont cependant soumis à de multiples sources de pollution telles qu'agricole, urbaine ou industrielle. Des actions de régulation ont ainsi été mises en place dans le cadre du contrôle et de la préservation de la qualité des eaux. Ainsi, la Directive Cadre sur l'Eau (DCE) définit les objectifs pour atteindre le bon état écologique et chimique des masses d'eaux. Parmi les substances identifiées comme prioritaires pour la surveillance régulière de ces milieux, l'acide perfluorooctanesulfonique (PFOS), faisant parti de la famille des substances perfluorées (PFAS), a été

intégré à la DCE lors de la révision de 2013. Le projet de révision en cours de la DCE prévoit l'inclusion d'une vingtaine de composés supplémentaires de cette famille.

Les PFAS sont utilisés dans de très nombreuses applications industrielles, par exemple en tant qu'adjuvants de polymérisation dans les polymères fluorés, tensioactifs dans les mousses anti-incendies, agents anti-buées dans le chromage, hydrofuges et oléofuges dans les textiles, le cuir, les matériaux de contact alimentaire et les cosmétiques, etc. Il est estimé que des milliers de PFAS différents sont utilisés dans l'industrie et pour lesquels leur devenir environnemental est peu ou pas connu. Ces substances sont notamment appelées par les médias les « polluants éternels » car elles sont extrêmement persistantes dans les milieux naturels. Dans les milieux aquatiques, leur nature acide les rend également mobiles. Les PFAS sont ainsi classés par la communauté scientifique dans la catégorie des substances PMT (Persistant, Mobile, Toxique) ce qui les rend particulièrement préoccupants envers les écosystèmes et la santé humaine.

Afin de mettre en place des moyens d'actions adaptées pour la protection des écosystèmes, il est indispensable de disposer de méthodes de diagnostic performantes permettant leur identification et suivi dans les milieux aquatiques. Des prélèvements ponctuels d'échantillons sont effectués dans le cadre de la surveillance régulière mais ne sont représentatifs que du moment où le prélèvement est effectué, ne tenant pas en compte des variations temporelles. Cependant, les niveaux de présence des polluants organiques dans les milieux aquatiques peuvent varier selon les épisodes climatiques, d'usage ou de saisonnalité. Des techniques de diagnostic alternatif, appelées échantillonneurs passifs, peuvent être ainsi envisagées afin de pouvoir refléter une fenêtre d'exposition moyenne des milieux et permettre une meilleure représentativité et impact sur les écosystèmes que les analyses à partir d'échantillonnage ponctuel.

Parmi les différents types d'échantillonneurs passifs commercialement disponibles, ceux-ci sont choisis en fonction des propriétés physico-chimiques de la molécule à analyser, afin d'optimiser l'extraction des polluants ciblés. Traditionnellement, notre groupe a travaillé sur le développement d'échantillonneurs passifs pour le diagnostic de pesticides ou encore des résidus médicamenteux. Ces dispositifs restent cependant assez coûteux économiquement, consommateurs de temps et de main d'œuvre pour la préparation, le déploiement et présentent parfois des problèmes liés à leur perte ou endommagement. Cette thèse a comme objectif d'étudier la possibilité d'utilisation d'échantillonneurs biologiques se développant naturellement dans les cours d'eau contaminés tout en évitant certains désavantages des échantillonneurs passifs classiques.

Bien que des études suggèrent que les plantes peuvent absorber et accumuler les PFAS (Ghisi et al, 2019), il n'existe actuellement aucune preuve que les plantes peuvent métaboliser les PFAS. En outre, les PFAS ne sont pas connus pour être des molécules naturellement synthétisées par conséquent les plantes n'ont pas développé de mécanismes pour métaboliser ces produits chimiques. Certaines plantes pourraient donc servir de bioindicateurs d'une pollution par PFAS.

D'un autre côté, bien que les composés polyfluorés sont souvent décrits comme des produits chimiques "éternels", la littérature scientifique détaille la biodégradation de plusieurs produits chimiques fluorés, y compris les PFAS (Huang et Jaffé, 2019; Yu et al., 2020). Cependant la biodégradation des composés fluorés, telle qu'elle a été observée à ce jour, se produit sur des échelles de semaines, voire mois. Les biofilms se développant dans les cours d'eau naturels, composés de plusieurs espèces de microorganismes et principalement de bactéries sont donc susceptibles non seulement d'accumuler (Munoz et al., 2008) mais aussi de dégrader lentement ces substances. Il est donc nécessaire de caractériser les cinétiques d'accumulation et de transformation dans les biofilms naturels si on veut les utiliser pour le diagnostic environnemental.

## Mots Clés

---

Polluants émergents, capteurs passifs, substances perfluorées (PFAS), biofilm, plantes aquatiques

## Objectifs

---

- (i) Développer des méthodes analytiques pour le suivi des substances perfluorées dans les matrices biologiques choisies (biofilm, *lemna minor*)
- (ii) Déterminer les substance perfluorées présentes et leurs niveaux d'occurrence spatio-temporelle dans les cours d'eau proche d'Alès
- (iii) Etudier la capacité des biofilms et des espèces végétales aquatiques choisies à accumuler et transformer les substances perfluorées d'intérêt.

## Déroulement de la thèse :

---

- La première partie des travaux consistera à développer des méthodes pour le suivi des substances choisies dans l'eau, les biofilms et les tissus végétaux basées sur des méthodes d'extraction par QuEChERS et SPE et d'analyse par chromatographie en phase liquide couplée à de la spectrométrie de masse en tandem. Une méthode d'analyse de ces substances dans l'eau sera également utilisée afin de constituer une référence de comparaison des résultats par rapport à ceux déterminés dans les milieux biologiques.
- Dans une deuxième partie, des expériences au laboratoire seront effectuées sur des pilotes en milieu contrôlé afin d'évaluer les capacités de sorption et de métabolisme des PFAS sur quelques matrices représentatives.
- Dans une dernière partie, des échantillons de biofilms et plantes aquatiques (immergées ou flottantes) et macrophytes de rives et berges seront prélevés dans des cours d'eau contaminés identifiés préalablement ce qui permettra de dresser un screening et un panorama en PFAS de la contamination de ces milieux.

## Méthodes

---

Le candidat développera des méthodes d'extraction des substances perfluorées à partir des matrices biologiques d'intérêt basées sur des techniques QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Efficient, Rugged and Safe*) et de méthodes d'extraction sur phase solide (SPE). Les substances perfluorées seront ensuite identifiées et quantifiées à partir de méthodes de chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MSMS).

Des expérimentations en laboratoire seront réalisées en mésocosmes (aquariums et colonnes) pour déterminer la capacité d'accumulation et la cinétique de transformation des substances perfluorées identifiées dans les espèces végétales choisies et les biofilms.

## Résultats attendus

---

- (i) Développement de méthodes pour l'analyse de substances perfluorées dans l'eau, des matrices végétales et de biofilm naturel endémique de la zone d'étude.
- (ii) Evaluation de la présence et distribution spatio-temporelle de substances perfluorées et produits de transformation dans des cours d'eaux proche d'Alès impactées par une zone à haute activité industrielle. Evaluation de la présence des substances perfluorées dans la flore autochtone et les biofilms naturels du bassin versant du Gardon d'Alès.
- (iii) Identification des cinétiques et produits de transformation dans les biofilms et plantes aquatiques à échelle de laboratoire.

## Précisions sur l'encadrement

---

Encadrants de proximité Sandrine BAYLE, François LESTREMAU et Andrés SAUVÊTRE, enseignants-chercheurs IMT Mines Alès. Travaux de terrain sur bassin versant du Gardon d'Alès. Expériences de laboratoire au site d'IMT Alès (Croupillac). Suivi de proximité de l'étudiant par M. SAUVÊTRE, avec des réunions régulières avec les codirecteurs (fréquence 1 fois/mois minimum). Points d'avancement avec l'ensemble des participants tous les 3 mois.

## Objectifs de valorisation des travaux de recherche du doctorant : diffusion, publication et confidentialité, droit à la propriété intellectuelle, ...

---

Les méthodes développées et les résultats obtenus seront valorisés *via* des publications dans des revues scientifiques internationales et la participation à des congrès internationaux.

## Profil et compétences recherchées

---

La personne recrutée devra avoir une formation avec une base solide en chimie et environnement et des compétences rédactionnelles et communicationnelles en anglais. Des connaissances des sciences du vivant serait un atout apprécié. Elle devra être capable de travailler en autonomie au sein d'une équipe pluridisciplinaire

## Références bibliographiques

---

- Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.
- Directive 2013/39/UE du parlement européen et du conseil du 12 août 2013 modifiant les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE en ce qui concerne les substances prioritaires pour la politique dans le domaine de l'eau
- Munoz G., Giraudel J-L., Botta F., Lestremau F., Dévier M-H., Budzinski H., Labadie P., Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: A French nationwide survey, *Science of The Total Environment*, 2015, 517, 48
- Tadic, D.; Manasfi, R.; Bertrand, M.; Sauvetre, A.; Chiron, S.; Use of Passive and Grab Sampling and High-Resolution Mass Spectrometry for Non-Targeted Analysis of Emerging Contaminants and Their Semi-Quantification in Water, *Molecules*, 2022, 27, 3167
- Brienza, M.; Sauvetre, A.; Ait-Mouheb, N.; Bru-Adan, V.; Coviello, D.; Lequette, K.; Patureau, D.; Chiron S.; Wery, N. ; Reclaimed wastewater reuse in irrigation: Role of biofilms in the fate of antibiotics and spread of antimicrobial resistance, *Water Research*, 2022, 221, 118830
- Kavusi E, Shahi Khalaf Ansar B, Ebrahimi S, Sharma R, Shideh Ghoreishi S, Nobaharan K, Abdoli S, Dehghanian Z, Asgari Lajayer B, Senapathi V, Price GW, Astatkie T, Critical review on phytoremediation of polyfluoroalkyl substances from environmental matrices: Need for global concern, *Environmental Research*, 2023, 217: 114844, ISSN 0013-9351
- Huang S, Jaffé PR. Defluorination of Perfluorooctanoic Acid (PFOA) and Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) by Acidimicrobium sp. Strain A6. *Environ Sci Technol*. 2019, 53(19):11410-11419. doi: 10.1021/acs.est.9b04047. Epub 2019 Sep 18. PMID: 31529965.
- Yu, Y., Zhang, K., Li, Z., Ren, C., Chen, J., Lin, Y.-H., Liu, J., Men, Y., 2020b. Microbial cleavage of C-F bonds in two C6 per- and polyfluorinated compounds via reductive defluorination. *Environ. Sci. Technol.* 54 (22), 14393–14402.
- Munoz, G.; Fechner, L.C.; Geneste, E.; Pardon, P.; Budzinski, H.; Labadie P.; Spatio-temporal dynamics of per and polyfluoroalkyl substances (PFASs) and transfer to periphytic biofilm in an urban river: case-study on the River Seine ; *Environ Sci Pollut Res* (2018) 25:23574–23582

# The role of biofilm and plants in the uptake of perfluorinated substances: implications for the environmental diagnosis of "eternal pollutants"

## Context

---

The management of water resources represents a major societal challenge in order to guarantee the access of populations to drinking water, the use for agricultural and industrial needs and the preservation of biodiversity. However, aquatic environments are subject to multiple sources of pollution such as agricultural, urban or industrial. Regulatory actions have been implemented to control and preserve water quality. Thus, the Water Framework Directive (WFD) defines the objectives to achieve good ecological and chemical status of water bodies. Among the substances identified as priorities for regular monitoring of these environments, perfluorooctanesulfonic acid (PFOS), part of the family of perfluorinated substances (PFAS), was incorporated into the WFD in the 2013 revision. The current draft revision of the WFD foresees the inclusion of about 20 additional compounds from this family.

PFASs are used in a wide range of industrial applications, for example as polymerization aids in fluoropolymers, surfactants in fire-fighting foams, anti-fogging agents in chromium plating, water and oil repellents in textiles, leather, food contact materials and cosmetics, etc. It is estimated that thousands of different PFAS are used in industry for which little or no information is available on their environmental fate. These substances are notably called by the media the "eternal pollutants" because they are extremely persistent in natural environments. In aquatic environments, their acidic nature also makes them mobile. PFAS are thus classified by the scientific community in the category of PMT substances (Persistent, Mobile, Toxic) which makes them particularly worrying for ecosystems and human health.

In order to set up appropriate actions for the protection of ecosystems, it is essential to have efficient diagnostic methods allowing their identification and monitoring in aquatic environments. Spot samples are taken as part of regular monitoring, but they are only representative of the moment when the sample is taken, not taking into account temporal variations. However, the levels of organic pollutants in aquatic environments can vary according to climatic, usage or seasonal episodes. Alternative diagnostic techniques, called passive samplers, can be considered in order to reflect an average exposure window of the environment and to allow a better representativeness and impact on the ecosystems than analyses based on spot sampling.

Among the different types of commercially available passive samplers, they are chosen according to the physicochemical properties of the molecule to be analyzed, in order to optimize the extraction of the targeted pollutants. Traditionally, our group has worked on the development of passive samplers for the diagnosis of pesticides or drug residues. However, these devices remain quite costly, time consuming and labor intensive to prepare, deploy and sometimes present problems related to their loss or damage. The objective of this thesis is to investigate the feasibility of using naturally occurring biological samplers in contaminated streams while avoiding some of the disadvantages of conventional passive samplers.

Although studies suggest that plants can take up and accumulate PFAS (Ghisi et al, 2019), there is currently no evidence that plants can metabolize PFAS. Furthermore, PFAS are not known to be naturally synthesized molecules therefore plants have not developed mechanisms to metabolize these chemicals. Some plants could therefore serve as bioindicators of PFAS pollution.

On the other hand, although polyfluorinated compounds are often described as "eternal" chemicals, the scientific literature details the biodegradation of several fluorinated chemicals, including PFASs (Huang and Jaffé, 2019; Yu et al., 2020). However, biodegradation of fluorinated compounds, as observed to date, occurs on scales of weeks to months. Biofilms developing in natural streams,

composed of several species of microorganisms and mainly bacteria, are therefore likely to not only accumulate (Munoz et al., 2008) but also slowly degrade these substances. It is therefore necessary to characterize the kinetics of accumulation and transformation in natural biofilms if they are to be used for environmental diagnosis.

## **Keywords**

---

Emerging pollutants, passive samplers, perfluorinated substances (PFAS), biofilm, aquatic plants

## **Objectives**

---

- (i) Develop analytical methods for monitoring perfluorinated substances in selected biological matrices (biofilm, *lemna minor*)
- (ii) Determine the perfluorinated substances present and their spatio-temporal occurrence levels in the watercourses near Alès
- (iii) To study the capacity of biofilms and selected aquatic plant species to accumulate and transform perfluorinated substances of interest.

## **Course of the thesis**

---

- The first part of the work will consist in developing methods for the monitoring of selected substances in water, biofilms and plant tissues based on extraction methods by QuEChERS and SPE and analysis by liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. A method for the analysis of these substances in water will also be used to provide a reference for comparison of the results with those determined in biological media.

- In a second part, laboratory experiments will be performed on controlled environment pilots in order to evaluate the sorption and metabolism capacities of PFAS on some representative matrices.

- In the last part, samples of biofilms and aquatic plants (immersed or floating) and macrophytes of banks and riverbanks will be taken in previously identified contaminated watercourses, which will allow to draw up a screening and a panorama in PFAS of the contamination of these environments.

## **Methods**

---

The candidate will develop methods for the extraction of perfluorinated substances from biological matrices of interest based on QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Efficient, Rugged and Safe) techniques and solid phase extraction methods (SPE). The perfluorinated substances will then be identified and quantified using liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) methods.

Laboratory experiments will be performed in mesocosms (aquaria and columns) to determine the accumulation capacity and transformation kinetics of the identified perfluorinated substances in the selected plant species and biofilms.

## **Expected results**

---

- (i) Development of methods for the analysis of perfluorinated substances in water, plant matrices and natural biofilm endemic to the study area.
- (ii) Evaluation of the presence and spatio-temporal distribution of perfluorinated substances and transformation products in watercourses near Alès impacted by a zone with high industrial

activity. Evaluation of the presence of perfluorinated substances in the autochthonous flora and the natural biofilms of the watershed of the Gardon d'Alès.

(iii) Identification of kinetics and transformation products in biofilms and aquatic plants at laboratory scale.

### **Supervision of the thesis**

---

Supervisors Sandrine BAYLE, François LESTREMAU and Andrés SAUVÊTRE, teacher-researchers IMT Mines Alès. Field work on the Gardon d'Alès watershed. Laboratory experiments at the IMT Alès site (Croupillac). Close follow-up of the student by Mr. SAUVÊTRE, with regular meetings with the co-directors (frequency 1 time/month minimum). Progress reports with all participants every 3 months.

### **Objectives of valorization of the doctoral student's research work: dissemination, publication and confidentiality, intellectual property rights, ...**

---

The methods developed and the results obtained will be promoted through publications in international scientific journals and participation in international conferences.

### **Profile and skills required**

---

The person recruited will have a solid background in chemistry and the environment, as well as writing and communication skills in English. Knowledge of life sciences would be an asset. The person should be able to work in a multidisciplinary team but conducting its own project with self-commitment.

### **References**

---

- Directive 2000/60/CE du Parlement européen et du Conseil du 23 octobre 2000 établissant un cadre pour une politique communautaire dans le domaine de l'eau.
- Directive 2013/39/UE du parlement européen et du conseil du 12 août 2013 modifiant les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE en ce qui concerne les substances prioritaires pour la politique dans le domaine de l'eau
- Munoz G., Giraudel J-L., Botta F., Lestremau F., Dévier M-H., Budzinski H., Labadie P., Spatial distribution and partitioning behavior of selected poly- and perfluoroalkyl substances in freshwater ecosystems: A French nationwide survey, *Science of The Total Environment*, 2015, 517, 48
- Tadic, D.; Manasfi, R.; Bertrand, M.; Sauvetre, A.; Chiron, S.; Use of Passive and Grab Sampling and High-Resolution Mass Spectrometry for Non-Targeted Analysis of Emerging Contaminants and Their Semi-Quantification in Water, *Molecules*, 2022, 27, 3167
- Brienza, M.; Sauvetre, A.; Ait-Mouheb, N.; Bru-Adan, V.; Coviello, D.; Lequette, K.; Patureau, D.; Chiron S.; Wery, N. ; Reclaimed wastewater reuse in irrigation: Role of biofilms in the fate of antibiotics and spread of antimicrobial resistance, *Water Research*, 2022, 221, 118830
- Kavusi E, Shahi Khalaf Ansar B, Ebrahimi S, Sharma R, Shideh Ghoreishi S, Nobaharan K, Abdoli S, Dehghanian Z, Asgari Lajayer B, Senapathi V, Price GW, Astatkie T, Critical review on phytoremediation of polyfluoroalkyl substances from environmental matrices: Need for global concern, *Environmental Research*, 2023, 217: 114844, ISSN 0013-9351
- Huang S, Jaffé PR. Defluorination of Perfluorooctanoic Acid (PFOA) and Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) by Acidimicrobium sp. Strain A6. *Environ Sci Technol*. 2019, 53(19):11410-11419. doi: 10.1021/acs.est.9b04047. Epub 2019 Sep 18. PMID: 31529965.
- Yu, Y., Zhang, K., Li, Z., Ren, C., Chen, J., Lin, Y.-H., Liu, J., Men, Y., 2020b. Microbial cleavage of C-F bonds in two C6 per-and polyfluorinated compounds via reductive defluorination. *Environ. Sci. Technol.* 54 (22), 14393–14402.
- Munoz, G.; Fechner, L.C.; Geneste, E.; Pardon, P.; Budzinski, H.; Labadie P.; Spatio-temporal dynamics of per and polyfluoroalkyl substances (PFASs) and transfer to periphytic biofilm in an urban river: case-study on the River Seine ; *Environ Sci Pollut Res* (2018) 25:23574–23582