



ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA TERRE



PROPOSITION DE THÈSE – ANNÉE UNIVERSITAIRE 2013-2014

Encadrant(s): Alexandre Gélabert/ François Guyot/ Marc Benedetti... **Direction / Unité :** LAB

Laboratoire d'accueil (A, acquis, P, prévu): Equipe Géochimie des eaux- IPGP-Univ. Paris Diderot Sorbonne Paris Cité UMR 7154 (A)

Nom du directeur de thèse (contacté / prévu): Marc Benedetti (C)

Titre de la thèse :

Transfert de métaux à l'interface biofilm/solution

Contexte (état de l'art, problématique scientifique, résultats attendus)

Les microorganismes peuvent être trouvés dans quasiment tous les environnements terrestres, allant des systèmes aquatiques en surface jusqu'à des milieux situés à plusieurs kilomètres de profondeur dans la lithosphère (Newman and Banfield, 2002). Parmi ceux-ci, les bactéries constituent un groupe phylogénétique majeur avec des concentrations rapportées de l'ordre de 10^7 à 10^{10} cellules/g de solide dans les sols, et une biomasse totale proche de celle des plantes (60 à 100%) (Whitman et al., 1998). Du fait de leur ubiquité et de leur réactivité importante, il est aujourd'hui largement admis que ces microorganismes sont capables d'imposer un contrôle majeur sur nombre de processus géochimiques. Par exemple, il a été montré que les crises sanitaires liées à la présence d'arsenic dans les aquifères d'Asie du Sud dépendaient directement de l'activité bactérienne lors de la réduction des phases porteuses associées (Islam et al., 2004) ; ou encore que le cycle environnemental du mercure était largement lié à sa méthylation par les bactéries (Boening, 2000). **Cependant, malgré un rôle reconnu pour les microorganismes, peu de données permettent aujourd'hui de quantifier avec précision leur implication sur ces cycles biogéochimiques.**

Les biofilms constituent le mode d'organisation principal des bactéries en milieu naturel, consistant en des colonies développées sur des substrats solides telles les surfaces minérales dans les sols. Dans ces structures situées à l'interface solide/solution, les cellules sont encapsulées dans des matrices hydratées de polymères extracellulaires, qui, en association avec les surfaces spécifiques élevées et les hautes densités de sites fonctionnels des parois bactériennes, confèrent des propriétés complexantes importantes pour les métaux et métalloïdes (Ha et al., 2011), et modifient donc la réactivité générale de l'interface minéral/solution (Templeton et al., 2001). En particulier, de par leur structure, les biofilms présentent des zones où les conditions pH, pE et les concentrations en espèces chimiques peuvent être très différentes de celles des eaux et solutions de sol avec lesquelles les biofilms sont en contact. **Il en résulte la présence de processus physico-chimiques uniques qui restent très difficilement prédictibles à cause d'une connaissance encore très parcellaire de la réactivité et de l'organisation des biofilms.** Par exemple, des précipitations de pyromorphite ($Pb_5(PO_4)_3(OH,Cl,F)$) ou encore d'uraninite (UO_2), non prédites par les approches thermodynamique sur ces systèmes, ont été mises en évidence dans les biofilms bactériens conduisant à l'immobilisation de ces éléments toxiques (Pb, U) sous des formes précipitées stables (Templeton et al. 2001 ; Fayek et al., 2005).

Du fait de leur réactivité importante, des changements physico-chimiques qu'ils génèrent (modification du pH, de l'état redox local ou sécrétion de métabolites complexants), et de leur omniprésence à la surface des minéraux, les biofilms bactériens sont aujourd'hui considérés comme pouvant constituer un contrôle majeur lors des processus d'altération chimique, sans pour autant qu'une estimation précise de leur rôle existe (Uroz et al., 2009). **Ce manque de quantification de leur impact ainsi que l'absence de concepts précis décrivant leur mode d'action constituent aujourd'hui un frein important à la compréhension des cycles biogéochimiques.**

Des travaux récents s'intéressant au partage des métaux à l'interface minéral/biofilm/solution basés sur des approches spectroscopiques (Templeton et al., 2001 ; Brown et al., 2008) ont pu montrer que l'affinité



ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA TERRE



chimique des différents compartiments pour les métaux était un facteur à considérer, mais aussi que les cinétiques de diffusion des ions à l'interface biofilm/minéral contrôlaient largement leurs capacités de piégeage. Or, ces cinétiques de transfert sont difficiles à appréhender, en particulier pour des éléments réactifs comme les métaux qui peuvent interagir avec les groupes fonctionnels des parois cellulaires et/ou précipiter dans ces matrices organiques lors de changements de pH ou de conditions redox. Il en résulte que la connaissance de l'évolution des conditions physico-chimiques (pH, pE...) dans les différents compartiments des biofilms ainsi que l'identification de phases secondaires associées constitue elle aussi une étape importante à la caractérisation du transfert d'éléments métalliques à l'interface minéral/biofilm/solution.

Objectifs et livrables

Ce travail de thèse s'attachera à déterminer les mécanismes et cinétiques de transfert des métaux et métalloïdes à l'interface minéral/biofilm/solution (Zn, Pb, Fe), intégrant à la fois les processus de diffusion, de sorption et de précipitation de ces éléments dans les différents compartiments constituant les biofilms.

Cette étude portera sur Pb et Zn deux éléments d'intérêt environnemental. Pb est un élément toxique pour lequel la précipitation sous forme de phase secondaire stable (pyromorphite) a été observée dans des biofilms, et Zn un élément essentiel dont les caractéristiques de diffusion sont très différentes de celle de Pb et pourront donc être intercomparées.

Fe sera aussi étudié pour son importance lors des processus d'altération. En particulier pour Fe, seront déterminées les conditions pour lesquelles les processus de diffusion à travers la matrice organique et les précipitations de minéraux secondaires peuvent constituer un facteur limitant lors de l'altération chimique.

Il sera aussi étudié dans quelle mesure les paramètres de diffusion des éléments dans les biofilms contrôlent la précipitation de phases secondaires (Pb et Zn).

Enfin, les approches thermodynamiques classiques basées sur la réactivité de cellules bactériennes individuelles seront testées et comparées aux résultats obtenus sur les biofilms, afin de pouvoir apporter des facteurs correctifs pour décrire la réactivité des biofilms bactériens.

Ce travail sera principalement effectué en laboratoire sur des systèmes modèles (cultures axéniques de *Shewanella spp.* et *Escherichia Coli*, mutants génétiquement contrôlés) afin de contrôler les paramètres physico-chimiques et de pouvoir extraire les constantes thermodynamiques et cinétiques associés aux processus de diffusion. Différents mutants bactériens seront utilisés afin d'obtenir des biofilms présentant des porosités/densités différentes. Ces systèmes seront exposés à des solutions métalliques (Zn, Pb, Fe) sous diverses conditions physico-chimiques (pH, concentrations).

Un des verrous principaux à l'étude des biofilms bactériens est d'ordre technique. Du fait de la complexité de ces interfaces et de la fragilité de ces structures tridimensionnelles, la plupart des méthodes analytiques habituellement employées en géochimie ne sont pas applicables à l'étude du transfert et de la séquestration des métaux dans ces matrices. Afin de contourner ce problème, nous proposons ici d'employer une approche multiple combinant plusieurs techniques analytiques.

- Les observations en microscopie confocale seront effectuées conjointement à des observations en microscopies électroniques à balayage et en transmission (TEM) afin d'accéder à la structure du biofilm (épaisseur, porosité) et pour détecter l'existence éventuelle de phases secondaires.
- Des cinétiques de sorption des métaux par les biofilms seront réalisées en réacteur. Les résultats obtenus permettront de déterminer les capacités complexantes des biofilms ainsi que les cinétiques globales associées (ordres réactionnels). L'approche thermodynamique basée sur le modèle NICA-Donnan (prenant en compte l'hétérogénéité des groupes fonctionnels) sera utilisée pour modéliser la sorption des métaux par les biofilms bactériens. Des expériences d'échange isotopique permettront de déterminer le taux de réversibilité de la complexation des métaux par les biofilms (et les cinétiques de désorption associées).
- Des mesures isotopiques (Zn et Pb) seront effectuées sur ces systèmes afin de déterminer l'évolution de l'amplitude de fractionnement en fonction du temps d'interaction. Ceci permettra de faire la part entre un régime diffusif (enrichissement en isotopes légers) et une complexation sur les



ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA TERRE



sites de surface bactériens (enrichissement en isotopes lourds). De plus, ces mesures permettront de définir une signature isotopique fiable associée aux biofilms.

- Des mesures par nano-SIMS et des mesures en XSW-FY (ondes stationnaires de rayons X) permettront de déterminer des profils de répartition verticaux des ions métalliques au niveau de l'interface minéral/biofilm/solution.
- Les techniques d'absorption des rayons X telles que l'EXAFS sous incidence rasante (GI-EXAFS) seront utilisées afin d'identifier la nature des phases secondaires.

Au travers de ces méthodes analytiques et des modélisations associées, l'étudiant obtiendra dans cette thèse une formation aux techniques de pointe en caractérisation des interfaces solides/solution en conditions de systèmes naturels réels, ainsi qu'à la modélisation thermodynamique et cinétique locales (à l'échelle du biofilm) dans le contexte d'un transfert d'échelle vers le système macroscopique.

Profil du candidat (formation, compétences, restrictions) :

- Formation universitaire/écoles d'ingénieur en Géosciences, Géochimie, Environnement.
- Connaissances en géosciences, microbiologie, utilisation de logiciels de modélisation, solides connaissances en minéralogie ou géochimie souhaitées.
- le candidat devra être autonome et rigoureux.
- Très bonne connaissance de l'anglais parlé, lu et écrit est indispensable

Transmission des candidatures (responsable, n° tél, adresse) : gelabert@ipgp.fr

Newman, D.K. and J.F. Banfield, *Geomicrobiology: How Molecular-Scale Interactions Underpin Biogeochemical Systems*. Science, 2002, **296**(5570):1071-1077.

Whitman, W.B., D.C. Coleman, and W.J. Wiebe, *Prokaryotes: The unseen majority*. PNAS, 1998, **95**(12):6578-6583.

Islam, FS; Gault, AG; Boothman, C; et al. *Role of metal-reducing bacteria in arsenic release from Bengal delta sediments*, Nature 2004, **430**(6995): 68-71

Boening, DW , *Ecological effects, transport, and fate of mercury: a general review*, Chemosphere, 2000, **40**(12),1335-1351

Ha J., Gelabert A., Spormann A.M., Brown G. Jr, *Role of extracellular polymeric substances in metal ion complexation on Shewanella oneidensis: Batch uptake, thermodynamic modeling, ATR-FTIR, and EXAFS study*, GCA, 2010, **74**, 1-15

Templeton, A.S., et al., *Pb(II) distributions at biofilm-metal oxide interfaces*. PNAS, 2001, **98**(21):11897-11902.

White A.F., Brantley S.L. *The effect of time on the weathering of silicate minerals: why do weathering rates differ in the laboratory and field?* Chemical Geology, 2003, **202**(3-4), 479-506

Barker, WW, Welch, SA, Chu, S., Banfield JF, *Experimental observations of the effects of bacteria on aluminosilicate weathering* American Mineralogist, 1998, **83**(11-12): 1551-1563