

SUJET DE THESE 2020-2023

Groupe de Recherche : MICA

Département :

MNBT (Micro et Nano Bio-Technologie)

Mot(s)-clé(s) : microcapteurs bio-électrochimiques, biocapteur algal, microtechnologies, Lab-on-Disc

Responsables du sujet : J. Launay
P. Temple-Boyer

e-mail : jlaunay@laas.fr

e-mail : temple@llas.fr

Titre du sujet de thèse : Conception, intégration et caractérisation de microcapteurs électrochimiques dans une plateforme type Lab-on-Disc pour la surveillance in situ de la qualité des eaux de surface par biocapteurs à algues

Les activités anthropiques génèrent un grand nombre de contaminants (métaux lourds, polychlorobiphényles (PCB), pesticides, médicaments...) qui mettent en danger aussi bien la pérennité des écosystèmes que la sécurité agro-alimentaire ou la santé humaine. Face à ce constat, la directive cadre sur l'eau impose, aux acteurs publics et privés, la mise en place d'une surveillance de la qualité des écosystèmes aquatiques. L'objectif des stratégies citées dans ce rapport concerne la proposition d'**outils de surveillance des eaux de surface**.

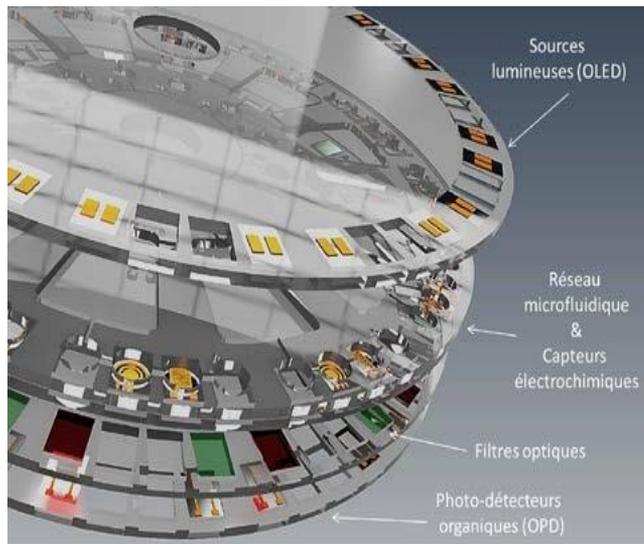
La mesure des contaminants d'eaux de surface (douces ou marines) s'effectue traditionnellement en laboratoire d'analyses par des techniques conventionnelles permettant la détection d'un large panel de molécules. La représentativité et la fiabilité du résultat final dépendent des étapes du prélèvement sur le terrain jusqu'au laboratoire. Conditionnement, conservation, stockage et transport sont des règles strictes à respecter afin de limiter toute évolution de l'échantillon. Ce processus s'avère laborieux, prend du temps et conduit à un manque de résultats **en temps réel** pour promouvoir une réponse proactive à la contamination de l'eau.

Pour compléter ces analyses conventionnelles, depuis une vingtaine d'années, des approches utilisant les **biocapteurs** se sont développées offrant l'intérêt de mesurer *in situ* et en continu la réponse d'organismes naturels (micro-algues, bactéries, ...) utilisés comme sondes.

Parallèlement, les développements de la **microfluidique** ouvrent la possibilité à ces biocapteurs d'évoluer vers des **systèmes d'analyse portables (Lab-On-Chip (LOC))**, cependant ces derniers restent encore marginaux sur le marché. Les exemples de systèmes totalement intégrés sont en effet rares en raison de la complexité de leur réalisation et de leur utilisation dans le contrôle fluide de plusieurs réactifs, ainsi que de coûts élevés d'installation, d'étalonnage, de transmission des données et de maintenance. Ainsi, les technologies de surveillance de la qualité de l'eau sont nombreuses mais manquent d'intégration, nécessitent beaucoup de main-d'œuvre, et sont au final longues et coûteuses.

L'amélioration de cette surveillance implique le développement et l'optimisation d'outils permettant de mieux rendre compte de la totalité du risque (éco-)toxique. En ce sens, la surveillance des effets de la contamination chimique, à l'aide d'**outils biologiques** associés à l'intégration de systèmes fluidiques appropriés, représente une approche très prometteuse.

Ce sujet de thèse proposé est partie prenante du projet ANR BELUGA (2019-2022) qui s'intéresse au problème sociétal posé par la pollution de l'eau et propose de répondre aux besoins des acteurs de la surveillance des milieux aquatiques. BELUGA fédère les expertises nécessaires au **développement d'une plateforme micro-fluidique** pour proposer un démonstrateur de type "sample-to-answer" dans un format "**Lab-On-a-Disc**" (LOD) **multi-mesures / multi-réponses**. La qualité de l'eau étant définie en fonction de ses caractéristiques chimiques, biologiques et physiques, le LOD intégrera un réseau de différents types de capteurs et de biocapteurs à cellules algales dont le système de transduction sera adapté aux caractéristiques à évaluer.



Une représentation simplifiée du concept de LOD du projet BELUGA est reportée Figure 1. Son architecture consiste en un empilement de différents disques, chacun intégrant des fonctions propres, avec une organisation de puits de mesure et de capteurs en couronne. Le disque supérieur (d1) intègre des sources lumineuses composées de matériaux organiques (diode électroluminescente organique - **OLED**) émettant sur différentes plages spectrales (mesures optiques et électrochimiques photo-initiées). Le disque suivant (d2) comporte le réseau micro-fluidique de manipulation des échantillons et suspensions d'algues.

Figure 1 : Représentation simplifiée du concept de LOD.

Il comprend de plus les capteurs électriques (conductivité) et électrochimiques. Les deux disques inférieurs (d3 et d4) intègrent respectivement les filtres optiques et les photodétecteurs organiques (**OPD**) pour les mesures de fluorescence et d'absorption du milieu (turbidité). Ces transducteurs optiques permettront la détection de la fluorescence directe, émise par les chlorophylles, ou indirecte, suite à la transformation d'un substrat chromophore par une activité enzymatique, alors que les **transducteurs conductimétriques et électrochimiques** seront adaptés à l'enregistrement : i) des charges générées par l'activité d'enzymes localisées sur les membranes externes des algues, ii) de l'oxygène dissout lié à l'activité photosynthétique, iii) de la valeur du pH de la solution, valeur étalon pour notre système de mesure et iv) de la concentration en nitrate, source élémentaire de pollution de l'eau de surface. L'objectif de ce projet reste bien l'étude de l'effet cocktail de matrices environnementales qui prendront en compte les éventuels effets synergiques ou antagonistes ainsi que les phénomènes de dégradation qui génèrent souvent des sous-produits plus toxiques que les molécules d'origine.

Le sujet de thèse proposé concernera l'étude des microcapteurs électrochimiques d'intérêt et leur intégration au sein du Lab-On-Disc BELUGA en vue du suivi de cultures algales et des analyses écotoxicologiques associées.

Pour implémenter ces différents microcapteurs bioélectrochimiques au sein du LOD, le doctorant s'appuiera sur ses travaux passés de l'équipe MICA du LAAS-CNRS sur le développement de microcapteurs ISFET (Ion Sensitive Field Effect Transistor), ISE (Ion Sensible Electrode) et ElecCell (Electrochemical microCell). Les méthodes électrochimiques dédiées à l'étude en phase liquide ont en effet montré des résultats prometteurs en outre pour la mesure du pH, ou la

détection de l'oxygène dissout ainsi que des ions nitrates NO_3^- . Elles seront donc plus particulièrement ciblées dans le cadre des travaux de thèse.

Afin d'effectuer le transfert de ces microdispositifs d'analyse vers des plateformes Lab-On-Disc, la fabrication collective de microcellules électrochimiques par des technologies de la microélectronique sera effectuée au sein de la plateforme de micro/nanotechnologie du LAAS (cf. filière ElecCell). Après avoir validé leurs propriétés et leurs performances de détection en phase liquide, le LOD sera utilisé afin de coupler les mesures électrochimiques et optiques. La pertinence de ce couplage a été précédemment démontrée au sein de l'équipe MICA, avec le suivi au sein d'une structure milli-fluidique des métabolismes de respiration/photosynthèse (consommation/ production de O_2 dissout) et de fluorescence de la micro-algue *Chlamydomonas Reinhardtii* (CR), ceci en corrélation avec la quantité de l'herbicide Diuron présente en solution. L'objectif des travaux sera d'élargir ce concept à d'autres algues et à d'autres polluants afin d'être capable de démultiplier les mesures, d'améliorer les technologies d'analyse environnementales, et d'aboutir à un système de type "Plug & analyze".

Dans ce cadre, les travaux de thèse seront dédiés à la conception, à la réalisation et à la caractérisation de microcapteurs électrochimiques sur substrats silicium et leur intégration et validation de fonctionnement dans un Lab-On-Disc. Ils concerneront plus particulièrement:

- l'étude et l'intégration de couches chimiquement sensibles spécifiques, de type oxyde métallique, par voie électrochimique pour la réalisation d'ISE sensibles au pH,
- l'étude et l'intégration de couche polymérique de fonctionnalisation à base d'ionophores, et des interfaces dédiées, pour la mise en place d'ISE nitrate NO_3^- ,
- l'étude des procédés d'intégration de pseudo-électrode de référence (Ag/AgCl, Ppy...),
- l'étude et l'intégration de microcapteurs de conductivité électrique en phase liquide,
- la conception, la fabrication technologique, l'encapsulation et le conditionnement de ces microcapteurs en vue de la mise en place d'une plateforme technologique dédiée Lab-On-Disc,
- la participation au développement d'interfaces de mesure et de bancs de caractérisation propres au système Lab-On-Disc complet réalisé,
- l'étude des propriétés de détection des différents microdispositifs et microsystèmes d'analyse, tout d'abord sur la base de solutions témoins, puis via la confrontation avec des échantillons issus de milieux réels.

Les travaux de thèse seront appliqués au développement des techniques d'analyse en continu et in-situ dans le cadre des analyses environnementales. Ces réalisations se feront en étroite collaboration avec nos collègues impliqués dans le projet ANR BELUGA : le LEHNA (Laboratoire d'Ecologie des Hydrosystèmes Naturels Aquatiques) pour l'utilisation et le choix des micro-algues ainsi que pour les études en milieu réel, l'INL (Institut de Nanoélectronique de Lyon) pour l'intégration des microcapteurs dans des "Lab-on-disc" plastiques, et la société ORIGALYS pour la validation du prototype industriel portable de mesure.