

SYNTHESE / EXTENDED ABSTRACT
FRANÇAIS / ENGLISH

**LES BIOCAPTEURS ANALYTIQUES DESTINES
A UN USAGE ENVIRONNEMENTAL**
**DEFINITION, PLACE AU SEIN DES AUTRES METHODES
ANALYTIQUES ET PERSPECTIVES D'USAGES**

ANALYTIC BIOSENSORS FOR ENVIRONMENTAL MONITORING
DEFINITION, COMPARISON WITH OTHER ANALYTICAL METHODS,
FUTURE CONSIDERATIONS FOR THE USE OF BIOSENSORS IN AN
ENVIRONMENTAL CONTEXT

mai 2018

E. LEFRANCOIS - ASCONIT
I. BAZIN - Les Mines D'Alès



Créée en 1989 à l'initiative du Ministère en charge de l'Environnement, l'association RECORD – REseau COopératif de Recherche sur les Déchets et l'Environnement – est le fruit d'une triple coopération entre industriels, pouvoirs publics et chercheurs. L'objectif principal de RECORD est le financement et la réalisation d'études et de recherches dans le domaine des déchets et des pollutions industrielles.

Les membres de ce réseau (groupes industriels et organismes publics) définissent collégalement des programmes d'études et de recherche adaptés à leurs besoins. Ces programmes sont ensuite confiés à des laboratoires publics ou privés.

Avertissement :

Les rapports ont été établis au vu des données scientifiques et techniques et d'un cadre réglementaire et normatif en vigueur à la date de l'édition des documents.

Ces documents comprennent des propositions ou des recommandations qui n'engagent que leurs auteurs. Sauf mention contraire, ils n'ont pas vocation à représenter l'avis des membres de RECORD.

Remerciements :

Les auteurs remercient Julie Carimalo et plus globalement le CTV AllEnvi (www.cvt-allenvi.fr) pour son aimable et fructueuse contribution à l'étude.

- ✓ Pour toute reprise d'informations contenues dans ce document, l'utilisateur aura l'obligation de citer le rapport sous la référence :
RECORD, Les biocapteurs analytiques destinés à un usage environnemental : définition, place au sein des autres méthodes analytiques et perspectives d'usages, 2018, 115 p, n°16-0152/1A
- ✓ Ces travaux ont reçu le soutien de l'ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie)
www.ademe.fr

© RECORD, 2018

RESUME

Les biocapteurs sont des appareils autonomes et intégrés, capables de fournir une mesure spécifique, quantitative ou semi-quantitative, d'un analyte, par le moyen d'un élément biologique de reconnaissance, directement en contact avec un élément de transduction. L'élément biologique constituant le récepteur peut être une cellule entière (procaryote ou eucaryote, parfois génétiquement modifiée), une molécule biologique (protéine, séquence d'ADN) ou une molécule synthétique biomimétique (enzyme ou anticorps recombinants, ADN synthétique, aptamère). En présence de l'organisme, la molécule ou le groupe de molécule cible, le récepteur émet un signal électrochimique, optique, mécanique ou magnétique qui est capté par le transducteur et converti en une mesure quantitative ou semi-quantitative.

Depuis le premier biocapteur enzymatique et électrochimique conçu pour la mesure de la glycémie, de nombreux autres biocapteurs ont été développés et commercialisés dans les domaines médicaux et agroalimentaires. Dans le domaine de l'environnement, les applications sont nombreuses et concernent autant l'eau, l'air que les matrices solides comme les sols et les déchets. Le besoin de disposer d'outils de mesure ou d'outils d'alerte, rapides, peu coûteux, utilisables in situ, sans compétences particulières, éventuellement capables de télétransmettre les résultats est croissant. Cependant la variabilité et la complexité des échantillons issus de l'environnement compliquent le développement de biocapteurs fiables, donnant des résultats reproductibles. De plus, la réglementation qui prévaut pour la surveillance de l'environnement est souvent très contraignante quant aux méthodes analytiques à mettre en œuvre. Ce sont là, les principales raisons qui expliquent le dynamisme de la recherche visant le développement de biocapteurs y compris dans le domaine de l'environnement et le peu de transferts industriels aboutissant à la commercialisation d'appareils. Toutefois, la rapide évolution de toutes les technologies impliquées dans la conception d'un biocapteur et la demande sociétale en matière de surveillance environnementale ne peuvent qu'être favorables à l'essor des biocapteurs.

MOTS CLES

Environnement ; Eau ; Air ; Sol ; Biocapteurs, Bioindication ; Ecotoxicologie ; 17 β œstradiol ; Bisphénol A ; Mercure ; Glyphosate ; Phénol ; Hydrocarbures

SUMMARY

Biosensors are autonomous and integrated devices, able to provide a specific quantitative or semi-quantitative measurement of an analyte. They are composed of a biosensing element (i.e. enzyme, tissue, living cell) that convert selectively a physical or biological event into a measurable signal. This biomediator can also be a biomimic or biologically derived material like enzymes, antibodies or nucleic acids created with genetic engineering. The signal resulting from the analyte's interaction with the biological element can be physicochemical, optical, piezoelectric, electrochemical, etc. It is transformed by the transducer into a signal that can be measured and quantified thanks to associated electronics or signal processor.

Since the first enzyme-based electrochemical biosensor was reported for the measurement of blood glucose level, many other biosensors have been developed in many fields namely food industry, medical field, and marine sector. In the field of environment, applications are numerous and concern as much water, air as solid matrices such as soil and waste.

Nowadays, there is obviously a need of fast, inexpensive, in situ and without special skills usable tools for a more efficient environmental monitoring. However, the variability and complexity of environmental samples complicate the development of reliable biosensors, giving reproducible results. In addition, current regulations for environmental monitoring are often very restrictive regarding analytical methods. These are the reasons why a paradox is observable: Research is very dynamic and prolific even in the field of the environment, while there are only few industrial transfers leading to the commercialization of devices.

Nevertheless, nanomaterial and all the technologies involved in biosensor development show great attractive prospects. In the same time, the societal demand for environmental monitoring is growing. This will probably promote biosensor development and their use in the near future.

KEY WORDS

Biosensors ; Environment ; Water ; Air ; Soil ; Bioindication ; Ecotoxicology ; 17 β œstradiol ; Bisphenol A ; Mercury ; Glyphosate ; Phenol ; Hydrocarbons

Contexte de l'étude

Les premiers biocapteurs ont été conçus au cours de la seconde moitié du XX^{ème} siècle pour un usage médical. Plus récemment, le marché global des biocapteurs a été estimé à 12 milliards de dollars en 2015 et est considéré en forte croissance. Cependant il reste nettement porté par le secteur médical. Les autres parts de marché concernent les segments de la sécurité industrielle, en particulier agroalimentaire, la surveillance environnementale et, dans une moindre mesure la biodéfense et la recherche.

Objectif et plan de l'étude

Cette étude a consisté à réaliser un état de l'art concernant la conception et le développement des biocapteurs à usages environnementaux sur différentes matrices (gaz, liquides et solides). Elle a permis d'apporter des éléments descriptifs détaillés sur les différentes technologies développées ou en cours de développement à l'échelle internationale : principe technologique, molécules détectées, robustesse, sensibilité, spécificité, avantages et inconvénients d'ordre scientifique, technique, mais aussi économique par rapport aux méthodes analytiques classiques et celles basées sur des éléments biologiques comme la bio-indication ou l'écotoxicologie. Dans un second temps, l'étude s'est concentrée sur les biocapteurs développés pour la détection de certaines molécules ou groupes de molécules, comme l'indique le plan ci-dessous. Enfin les informations recueillies dans la bibliographie comme au cours de nombreux entretiens menés avec des chercheurs, des dirigeants de start-up et quelques gestionnaires ont été analysées afin de définir le potentiel d'usage des biocapteurs dans le domaine de l'environnement.

I. Contexte et Objectif de l'étude

1. Contexte historique et économique
2. Objectifs de l'étude

II. Méthodologie

1. Les différentes étapes de l'étude
2. Le recueil des publications
3. Les entretiens
4. Les programmes de recherche nationaux et européens

III. Ce que nous apprend la bibliométrie

1. Analyse descriptive de la bibliographie
2. Contribution des pays et organismes de recherche dans le domaine des biocapteurs

IV. Définition et classification des biocapteurs

1. Définition
2. Classification : les différents types de biocapteurs
3. Les biocapteurs d'effets

V. Les biocapteurs adaptés à la surveillance environnementale

1. Biocapteurs à cellule entière
2. Biocapteurs intégrant des biorécepteurs ayant des propriétés catalytiques
3. Biocapteurs intégrant des biorécepteurs ayant une affinité vis-à-vis de la molécule cible
4. Les autres technologies associées aux biocapteurs

VI. Avantages et inconvénients des biocapteurs

1. Rappel sur les méthodes analytiques traditionnelles
2. Les méthodes écotoxicologiques et de bioindication
3. Place des biocapteurs parmi les méthodes d'évaluation environnementale
4. Avantages communs à tous les biocapteurs

VII. Les avantages spécifiques de chaque type de biocapteurs

VII. Les différentes matrices cibles

1. L'eau
2. L'air
3. Les solides (sol, déchets solides)

VIII. Biocapteurs développés ou en cours de développement ciblés sur des groupes de molécules d'intérêt

Context of the study

The first biosensors were developed during the second half of the XXth century, for a medical use. More recently, the global market of biosensors was estimated at 12 billion dollars in 2015 and is considered growing fast. However it remains clearly supported by the medical sector. Other markets concern industrial safety, food-processing industry, environmental monitoring and, to a lesser extent, biodefense and research.

Aims and plan of the study

This study aimed to realize a state of the art concerning the development of biosensors for environmental uses, on various matrices (gases, liquids and solids). It addresses descriptive elements of developed and ongoing technologies, at an international scale: technological principle, detected molecules, robustness, sensitivity, specificity. Scientific, technical and economic advantages and drawbacks were discussed. All these characteristics were compared with classic analytical methods and those based on biological elements as bioindication and ecotoxicology. Secondly, the study focuses on the biosensors that were developed for the detection of some molecules or groups of molecules (see plan below). Several stakeholders such as scientists, start-up leaders and environment quality managers were interviewed in parallel. Finally all the collected information was analyzed to define the potential of use of biosensors for the environment.

I. Context and aim of the study

1. Historical and economical context
2. Aim of the study

II. Methodology

1. Study stages
2. Bibliography
3. Interviews
4. National and European research programs

III. Bibliometric analysis

1. Descriptive analysis of bibliography
2. Countries and research organization involvement

IV. Definition and classification of biosensors

1. Definition
2. Classification: different types of biosensors
3. Biosensors for toxicity effect monitoring

V. Biosensors appropriate for environmental monitoring

1. Whole-cell based biosensors
2. Enzyme based biosensors
3. Antibody, protein receptor or DNA based biosensors

4. Other technologies involved in biosensor development

VI. Biosensor advantages and drawbacks

1. Conventional analytical methods
2. Ecotoxicological and bioindication methods
3. Biosensors among environmental quality assessment
4. Global biosensor advantages
5. Specific advantages of each type of biosensors

VII. Involved matrices

1. Water
2. Air
3. Solids (soil, waste)

VIII. Biosensors specific to some molecules or molecule group

1. Endocrine disruptive molecules
2. Glyphosate and its main metabolite: AMPA
3. Mercury (Hg) and other trace metals
4. Hydrocarbons, chlorine and phenol compounds

IX. Conclusion and perspectives

1. Conclusions

1. Les perturbateurs endocriniens
 2. Le glyphosate et son principal métabolite l'AMPA
 3. Le mercure (Hg) et autres Éléments Traces Métalliques (EMT)
 4. Les hydrocarbures, les composés chlorés et phénolés
- IX. Bilan et Perspectives
1. Bilan
 2. Perspectives

Exposé des principaux résultats obtenus

Définition des biocapteurs

La définition d'un biocapteur a été donnée par l'International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). Il s'agit d'un appareil autonome et intégré, capable de fournir une mesure spécifique, quantitative ou semi-quantitative, d'un analyte, par le moyen d'un élément biologique de reconnaissance, directement en contact avec un élément de transduction. Il est composé de 3 éléments :

- un élément de reconnaissance biologique (enzyme, anticorps, brin d'ADN...),
- un transducteur capable de transformer le signal détecté en une donnée lisible et quantitative ou semi-quantitative,
- un élément capable de présenter facilement et utilement cette donnée.

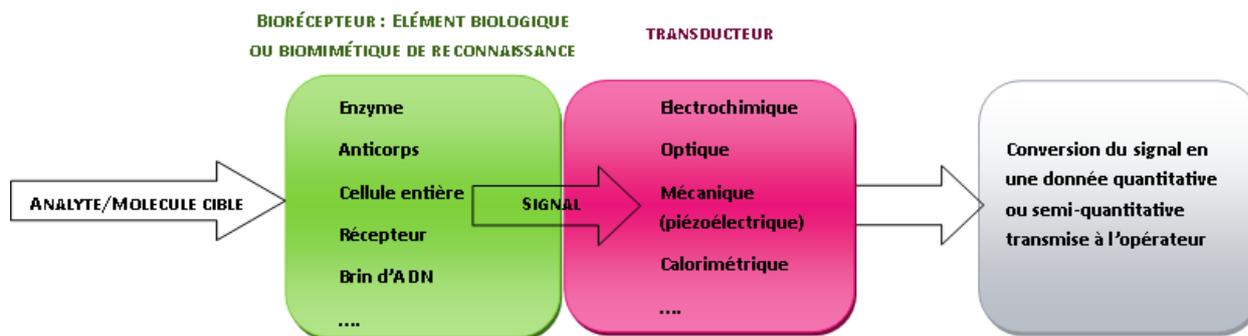


Figure 1 : Schéma représentant les différents éléments d'un biocapteur

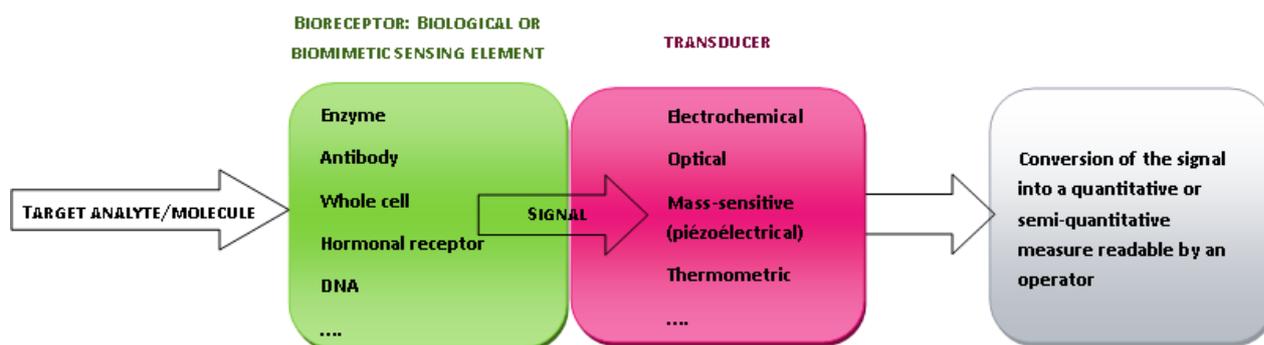


Figure 2 : Scheme of a biosensor

Un biocapteur doit, en outre,

- être réutilisable,
- fournir des résultats indépendamment des paramètres physico-chimiques (pH, T°...),
- fournir des résultats sans ajout d'autres réactifs ou sans prétraitement de l'échantillon,
- intégrer les deux composants principaux (récepteurs et transducteurs) dans un même dispositif petit et portatif.

2. Perspectives

Main results

Definition

The definition of a biosensor was given by International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). It's an analytical device providing a specific, quantitative or semi-quantitative measure of an analyte. Biosensor is an autonomous device composed of two intimately associated elements, a bioreceptor and a transducer (Figure 2), connected to an operator interface:

- a biological sensing element (enzyme, antibody, DNA...),
- a physicochemical, optical,... transducer able to deliver complex bioanalytical measurements with simple, easy-to-use formats,
- an operator interface which exhibits the final results.

Moreover, a biosensor has to

- be reusable,
- provide results independently from physicochemical parameters (pH, temperature,...),
- provide results without any previous preparation of the sample,
- form a small and portable integrated device.

Classification

Les biocapteurs peuvent être classés en trois groupes en fonction de la nature de leur récepteur :

- Groupe micro-organisme
Ce groupe comprend les biocapteurs microbiens ou cellulaires ou encore tissulaires (utilisant des membranes ou des organites cellulaires comme les récepteurs).
- Groupe catalytique basé sur l'emploi d'enzymes
Les plus couramment utilisées étant les oxydoréductases, les polyphénol-oxydases, les peroxydases ou les aminooxydases. Des enzymes ou leurs sites actifs synthétisés par bioingénierie présentent de nets avantages en matière de sensibilité et stabilité.
- Groupe basé sur la bioaffinité entre molécules
Anticorps, acides nucléiques, récepteur hormonal et leurs versions synthétiques biomimétiques comme les anticorps recombinants, les aptamères, les acides nucléiques peptidiques (dans lesquelles l'architecture de ribose est remplacée par une architecture de polyamide), les peptides affines ou encore les polymères à empreinte moléculaire.

La nature biologique du biorécepteur implique la présence d'eau. Ceci explique la relative abondance des biocapteurs développés pour cette matrice par rapport à ceux qui concernent l'air ou les sols. La plupart des biocapteurs qui ont été développés pour une mesure dans l'air, à une exception près, fonctionnent à l'interface air/eau. Quant à la matrice sol ou solides pollués, une étape d'extraction des molécules polluantes est la plupart du temps nécessaire.

On peut classer également les biocapteurs en fonction de la nature du signal émis par le récepteur et capté par le transducteur :

- Biocapteurs électrochimiques (ampérométrie, potentiométrique, conductométrique et impédimétrique).
Deux techniques électrochimiques se distinguent par leur rapidité et leur efficacité : la voltamétrie à onde carrée (SWV pour Square wave voltammetry) et la spectrométrie d'impédance électrochimique (EIS pour electrochemical impedance spectroscopy). Un biocapteur électrochimique est un appareil dans lequel le récepteur est intégré dans ou intimement associé à une électrode. La sensibilité, la spécificité et la stabilité du biocapteur est fonction de la méthode d'immobilisation du biorécepteur à la surface du transducteur, en particulier du type de liaisons mises en œuvre : adsorption, encapsulation, liaison covalente, liaison ionique, polaire, hydrogène ou interaction hydrophobe (constitution d'une ou 2 couches auto-assemblées de lipides). Autant d'éléments qui introduisent une grande diversité.
- Biocapteurs optiques
Le signal émis est un faisceau lumineux. Plusieurs types de biocapteurs optiques peuvent être distingués en fonction des propriétés physiques du faisceau lumineux exploitées : absorption lumineuse, fluorescence/phosphorescence, bio/chemiluminescence, réflectance, réfraction, diffusion Raman. Les techniques optiques mobilisées sont les fibres optiques, les guides d'ondes optiques, la résonance plasmonique de surface (SPR pour Surface Plasmon Resonance) ou encore le transfert d'énergie entre molécules fluorescentes (FRET pour Förster ou Fluorescent Resonance Energy Transfer).
- Biocapteurs mécaniques
Ils sont capables de mesurer le changement de fréquence de résonance d'un cristal induit par son changement de masse.

Classification

Biosensors can be classified into three different basic groups according to the biological recognition elements:

- Whole-cell group
This group includes biosensors based on microorganisms, whole cells or biologic tissues (using membranes or cellular organelles as the recognition element).
- Enzymatic group
Most usually used enzymes are oxydoreductases, polyphenoloxydases, peroxydases or aminooxydases. Enzymes or their active sites that can be synthesized by bioengineering present clear advantages regarding sensitivity and stability.
- Immunochemical, non-enzymatic receptor and nucleic acid group
This group includes biosensors based on antibodies, nucleic acid and hormonal receptor. Their biomimetic synthesized twins such as recombinant antibodies, aptamers and peptidic nucleic acids (a polyamide molecule replaces ribose) as well as affine peptides and molecularly imprinted polymers (MIPs) are also included.

The biological nature of the bioreceptor implies the presence of water. This is why there are more biosensors developed for this matrix than for other matrices (air, solids). In addition, most of the biosensors developed for the air, work actually in the interface air / water. Up to date, the use of biosensors for solid matrix needs a previous stage of extraction.

Biosensors can also be classified into five different groups on the basis of signal transduction: electrochemical, optical, mass sensitive, magnetic and thermometric sensors:

- Electrochemical biosensors
Various methods can be used in electrochemistry (amperometric, potentiometric,...), based on the developing of label-free electrochemical biosensors. Square wave voltammetry (SWV) and electrochemical impedance spectroscopy (EIS) seems to be the more rapid and effective among electrochemical techniques. The sensitivity, precision, accuracy and stability of these biosensors mainly depend on electrode surfaces and bioreceptor immobilization methods (ie adsorption, encapsulation, covalent, ionic, polar, hydrogen bond or hydrophobic interactions).
- Optical biosensors
The various types of optical transducers exploit properties such as simple light absorption, fluorescence/phosphorescence, bio/chemiluminescence, reflectance, Raman scattering and refractive index. Examples of optical techniques usually used in biosensors are optic fiber, optical waveguide structures, surface plasmon resonance (SPR) and Förster or Fluorescent Resonance Energy Transfer (FRET).
- Mass-sensitive biosensors
Within mass-sensitive biosensors, acoustic wave biosensors operate on the basis of an oscillating crystal that resonates at a fundamental frequency. The crystal element is coated with a layer containing the biorecognition element designed to interact selectively with the target analyte. A measurable change in the resonance frequency occurs after the binding of the analyte on the sensing surface according to the mass

Ce changement de masse se produit lorsque la molécule cible se lie à la surface sensible, elle-même déposée à la surface du cristal. Ce changement de fréquence peut être mesuré par une microbalance de cristal de quartz ou un appareil mesurant les ondes acoustiques de surface.

- Biocapteurs magnétiques

Ils sont capables de détecter un effet de magnétorésistance, généralement induit par la présence de micro ou nano particules.

- Biocapteurs thermiques ou calorimétriques

C'est le changement de température induit par la présence de la molécule cible qui entraîne un changement de la résistance du transducteur.

La classification des biocapteurs tient compte à la fois de la nature du transducteur et de celle du récepteur. L'association entre un type de biorécepteur et un type de transducteur n'est pas aléatoire et influence directement les caractéristiques techniques du biocapteur (sensibilité, spécificité, robustesse, durée de vie...) ainsi que les usages qui pourront en être fait (molécule recherchée, matrice cible, outil d'alerte, mesure en continue...).

Les biocapteurs au sein des autres méthodes analytiques employées dans l'environnement

Les avantages et inconvénients des biocapteurs doivent pouvoir être appréciés au regard des limites des technologies existantes : méthodes analytiques traditionnelles (chromatographie gazeuse, chromatographie liquide haute performance, spectrométrie de masse, spectroscopie de fluorescence) et méthodes écotoxicologiques ou de bioindication.

Les méthodes analytiques traditionnelles sont sensibles et fiables pour la détection et la quantification de centaines de molécules mais elles présentent néanmoins plusieurs inconvénients :

- elles sont chronophages et coûteuses,
- elles nécessitent l'emploi de matériels coûteux et sophistiqués ainsi que la présence de main d'œuvre qualifiée,
- elles sont difficiles à mettre en œuvre ponctuellement,
- elles impliquent le transport des échantillons jusqu'au laboratoire ce qui entraîne un délai supplémentaire et peut biaiser les résultats,
- elles nécessitent souvent la mise en œuvre d'étapes préliminaires de concentration et préparation des échantillons,
- elles ne permettent pas d'apprécier les impacts sur les organismes et les écosystèmes,
- elles ne rendent pas compte des effets cocktail et de la biodisponibilité des polluants dans le milieu.

D'autre part, les méthodes écotoxicologiques ou de bioindication ont aussi leurs limites :

- elles sont aussi relativement chronophages et coûteuses,
- elles nécessitent l'utilisation d'un laboratoire,
- elles ne permettent ni une évaluation en temps réel, ni à grande échelle, ce qui n'en fait pas des outils d'alerte pertinents,
- elles sont rarement adaptées aux micropolluants (en ce qui concerne la bioindication),
- elles impliquent la présence d'une main d'œuvre qualifiée,
- elles sont parfois difficiles à interpréter.

Les biocapteurs présentent, en comparaison, des avantages indéniables pour un usage environnemental. Ils sont souvent pénalisés par leur manque de reproductibilité.

Parmi toutes ces méthodes analytiques, les biocapteurs d'effets se distinguent. Ce sont des biocapteurs capables de mesurer

change of the crystal. Most of these biosensors utilize piezoelectric materials as the signal transducers.

- Magnetic biosensors

These biosensors exploit the magnetoresistance effect of a transducer made of micro or nanoparticles. The magnetoresistance effect involves the electron mobility of the material.

- Thermometric biosensors

Thermometric biosensors exploit the absorption or evolution of heat in biological reactions which is transduced by a change in the transducer resistance.

The association between a bioreceptor and a transducer is not aleatory. The biosensor nature will strongly affect its technical characteristics (sensitivity, specificity, accuracy, stability) and its uses (alert tool, continuous measurement, target molecule and matrix).

Biosensors and other analytical methods for environment monitoring

The advantages and drawbacks of biosensors are evaluated in comparison to conventional analytical methods (gas chromatography, high performance liquid chromatography, mass spectrometry, fluorescence spectroscopy), as well as ecotoxicological and bioindication methods.

The traditional analytical methods are sensitive and reliable for the detection and the quantification of hundred molecules but they present several drawbacks:

- *They are time consuming and expensive;*
- *Their implementation implies expensive and technically advanced devices as well as skilled labor ;*
- *Consequently, they are not convenient for punctual analysis;*
- *Samples need to be transported to the laboratory. Then, results are delayed and can be biased;*
- *Previous stages of concentration and preparation of samples are common;*
- *They allow molecule quantification but can't assess pollution impacts on ecosystem or organism ;*
- *They can't assess pollutant biodisponibility and cocktail effects on ecosystems.*

Furthermore, ecotoxicological and bioindication methods also exhibit some limitations:

- *They can be time consuming and expensive;*
- *Their implementation implies skilled labor as well ;*
- *They need the use of a laboratory ;*
- *They can't provide a result in real time neither on large scale. Thus, they can't be a pertinent alert tool ;*
- *Bioindication methods aren't pertinent for micropollutant impact assessment ;*
- *Result interpretation can be difficult.*

In comparison, biosensors present undeniable advantages for an environmental use even if their lack of reproducibility is often highlighted.

Among all these analytical methods, biosensors for toxicity effects can be distinguished. They can analyze molecules which can be chemically very different but they have the same effect on their bioreceptor. Biosensors for endocrine disruptor, organophosphate pesticides or dioxin-like compounds are good examples. Those biosensors are commonly used to highlight mixture effects or as alert tool in order to screen highly polluted sites to explore further.

des molécules parfois chimiquement très différentes mais qui ont le même effet sur le biorécepteur, comme par exemple les perturbateurs endocriniens, les pesticides organophosphorés ou les composés « dioxin-like ». Ils peuvent donc être employés pour mettre en évidence des effets cocktails ou comme outil d'alerte.

Quelques exemples de biocapteurs adaptés à un usage environnemental

- Le biocapteur NODE, développé et commercialisé par la société ENOVEO, est un biocapteur microbien permettant la mesure de la qualité de l'eau en temps réel sur les environnements aquatiques naturels (nappes phréatiques, sols, rivières, lacs) et industriels (bioprocédés, réseau urbains, stations d'épuration, surveillance de nappes phréatiques à risque). Son fonctionnement repose sur la conversion, par les bactéries naturellement présentes dans un milieu, de l'énergie chimique en énergie électrique. Les micro-organismes dégradent la matière organique et génèrent un signal électrique proportionnel à la quantité de substrat présent. L'appareil est autonome énergétiquement et modulable en fonction de l'usage et du milieu étudié.
- La société ARYBALLE Technologies, créée il y a 3 ans, développe et commercialise le seul biocapteur fonctionnant strictement dans la matrice air. Ce biocapteur sensoriel intègre un transducteur optique fondé sur la technologie de Résonance Plasmonique de Surface (SPR) par imagerie adaptée à l'analyse sensorielle, initialement brevetée par le CEA-Grenoble et le CNRS. Dans la conception de ce biocapteur, le choix du biorécepteur a été crucial et s'est porté sur des petites molécules protéiques (peptides), lipidiques ou glucidiques, quasiment à l'interface de la biochimie et de la chimie, qui n'ont pas besoin d'eau. Le choix est donc très restreint. Malgré leur petite taille, ces molécules gardent néanmoins une bonne partie de leurs propriétés fondamentales tant au niveau de leur structure (structures I_{re} à III_{re}) que de leurs fonctions, notamment leur capacité à établir des liaisons électrostatiques et de Van der Vals. Ce sont donc bien des mécanismes biochimiques qui sont en cause. Le biorécepteur transforme chaque odeur en un pattern biochimique lui-même transformé en un signal optique par le transducteur. La technologie est universelle et permet en théorie la détection des tous les COV (alcool, ester...), mais la spécificité n'est pas constante car certaines signatures se superposent. Des signatures très distinctes ont néanmoins été obtenues pour une trentaine de molécules.

Conclusions

Les entretiens et l'ensemble des recherches menés au cours de cette étude révèlent que le domaine de la recherche sur les biocapteurs est dynamique depuis 20 à 30 ans. En effet, le caractère compact des biocapteurs, leur portabilité, leur sélectivité en font un outil de choix pour détecter et/ou de quantifier des molécules cibles dans les fluides biologiques, les aliments ou encore l'environnement. Et toutes ces raisons laisseraient à penser qu'ils pourraient un jour supplanter les techniques existantes. Cependant les marchés les plus porteurs concernent très nettement les secteurs de la santé et de l'agro-alimentaire. Le marché de l'environnement ne semble pas réellement au rendez-vous ce qui explique le peu de transferts industriels observés. En effet, de nombreuses questions demeurent qui compliquent la prise de décision et pénalisent l'investissement et le transfert industriel pour un usage environnemental :

- Quels sont les molécules qui représentent le marché le plus porteur ? Quels sont celles qui risquent d'être interdites ? Comment prioriser les projets ?

Two examples of marketed biosensors for environmental use

- *The biosensor NODE, developed and marketed by the company ENOVEO, is a microbial biosensor. It's used to assess water quality in real time on natural hydrosystems (groundwaters, rivers and lakes) and industrial waters (bioprocured waters, city networks, water-treatment plants). Electric signal is generated by local bacteria metabolism and is proportional to organic matter. The biosensor is also an alert tool of toxic compounds that could impact bacteria metabolism and, then, electric signal. The device is energetically autonomous and can be used in various environments.*
- *The ARYBALLE technologies company, created 3 years ago, develops and markets the only biosensor working strictly in the air. This sensorial biosensor integrates an optical transducer based on SPR, initially patented by CEA (Commission à l'Energie Atomique, Grenoble, France) and CNRS (Centre National pour la Recherche Scientifique, France). The choice of the bioreceptor was crucial and focused on very small proteins (peptides) which keep their spatial structure without water. Their capacity to establish electrostatic (Van der Vals) bonds had also to be preserved in the air. The choice was, thus, very restricted. These peptides transform each smell into a biochemical pattern which generates an optical signal thanks to the transducer. The technology is universal and allows in theory the detection of all the COV (alcohol, ester), but the specificity is not constant because some smell signatures overlap. Very different signatures were nevertheless obtained for around thirty molecules.*

Conclusions

Both interviews and bibliography pointed out that the domain of biosensor research has been dynamic for 20-30 years. Thanks to their compactness, portability and specificity, biosensors are convenient tools for target molecule analysis in biological fluids, food or environment. All these reasons would let think that they could supplant the conventional techniques. However the most expanding markets still concern health and food-processing industry sectors. Very few industrial transfers occurred in the environment sector even if many biosensors had been developed. Some unanswered question can be pointed out:

- *What molecules should be targeted? Which ones could be forbidden in the near future?*
- *Biosensors for environmental use have to face specific difficulties (sample variability, fooling, result drift and lack of reproductibility) which increase time to market and global cost. How to manage with these well-known difficulties?*
- *How to highlight real advantages of biosensors in comparison to conventional methods?*
- *How to take into account regulatory evolution with the research and development time?*

Nevertheless, biosensor perspectives of development exist and concern essentially 3 lines:

- Target molecules
New molecules are constantly developed and launched on the market. The abundance of molecules in environment prevents to analyze all of them on each site. The use of biosensors as preliminary alert tools seems to be pertinent to 1) screen sites and point out highly polluted ones, 2) increase efficiency and limit the cost of environmental monitoring and 3) assess mixture impacts on ecosystems and human health.

- Comment mesurer les impacts des difficultés techniques spécifiques à un usage environnemental (variabilité de l'échantillon, encrassement du matériel) sur la sensibilité, la robustesse et la reproductibilité des analyses par les biocapteurs? Comment évaluer le risque d'échec et leur impact sur le temps de développement d'un projet ?
- Quels sont les réels avantages de ces technologies par rapport aux autres méthodes ?
- Comment va évoluer la réglementation ? Comment anticiper les évolutions réglementaires en prenant en compte le temps de développement d'un biocapteur ?

Néanmoins, les perspectives de développement des biocapteurs existent et concernent essentiellement 3 axes :

- Les molécules cibles
De nouvelles molécules sont constamment mises sur le marché. Certaines d'entre elles se prêtent bien à la détection par les biocapteurs. Les gestionnaires prennent également conscience de l'intérêt des outils d'alerte pour mieux sérier les sites à analyser par des méthodes traditionnelles. Les outils de détection de mesure des effets cocktails répondent aussi à une nouvelle demande sociétale.
- Les matrices cibles
Il y a également une demande sociétale importante concernant la qualité de l'air (intérieur et extérieur) qui pourrait porter le marché des biocapteurs.
- Les nouvelles technologies
Tous les progrès des technologies associées (la micro/nano électronique, la chimie des surfaces, la biologie moléculaire, l'électrochimie, la chimie des matériaux, ou encore la microfluidique...) peuvent favoriser la recherche dans le domaine des biocapteurs.

L'utilisation des biocapteurs et leur développement est une évidence dans le domaine de la santé et connaît encore au niveau de la recherche des progrès fulgurants (comme le développement de biocapteurs pour le suivi du vieillissement des populations, la mise au point de dispositifs d'aide médicale à domicile etc...). Concernant le secteur d'application visé dans cette étude, le secteur de l'environnement, il est clair que les biocapteurs restent encore aujourd'hui une solution d'avenir. Néanmoins son déploiement comme outils d'analyse risque de rester dans l'ombre des outils de chimie analytique qui eux sont normalisés. L'avenir du marché des biocapteurs dans ce domaine semble se dessiner si cet outil est perçu comme un outil de screening in situ (outil de gestion sur site et non de monitoring), complémentaire aux analyses réglementaires et/ou comme outil de mesure d'effets (effet cocktails, toxicité).

Les opinions recueillies au cours de cette étude illustrent bien ce paradoxe. Les personnes ressources interrogées sont en effet très partagées sur la technologie au service de l'environnement. Certains constatent que la technologie n'est pas beaucoup plus déployée qu'il y a 30 ans. D'autres ont même fait évoluer leurs travaux vers des domaines plus porteurs ou d'autres usages (les piles à combustible microbiennes). Bien que conscients des difficultés, certains chercheurs continuent néanmoins à développer des biocapteurs à usage environnemental, s'appuyant sur le fait que les atouts des biocapteurs sont de plus en plus nombreux et cohérents avec les besoins des gestionnaires et la demande sociétale.

Moreover, some of these news molecules are particularly adapted to biosensor technique.

- Target matrices
Frequent air pollution crisis could promote in/outdoor air quality monitoring and, secondary, biosensor uses.
- New technology
Every progress in associated technologies (micro / nano electronics, surface chemistry, molecular biology, electrochemistry, material chemistry, microfluidics) can promote biosensor research.

The use and development of biosensors in health field is an evidence and still continue to progress. For example, the follow-up of ageing populations or the implementation of devices dedicated to medical assistance in residence obviously promote biosensor development. Concerning the sector of application aimed in this study, the environment sector, biosensor use remains a perspective. Biosensor implementation as analytical tools is most probably hampered by conventional and standardized tools. Nevertheless, biosensors could be a useful and pertinent technology as in situ screening tools, complementary to the lawful analyses and/or as measuring tools of toxicity (cocktail effects).

The opinions collected during this study illustrate this paradox well. Questioned people are divided about the pertinence of biosensor technology for environment monitoring. Some of them noticed that technology is not much implemented than 30 years ago. Some others have adapted their research work towards high-growth sectors or other uses (microbial fuel cell). Although they are conscious of the difficulties, some scientists persist with biosensor development for environmental use. They remain convinced that biosensor assets are numerous and will match with the needs of environment quality managers and the society.