

## Avis de Soutenance

Monsieur Antoine RICO

Optique et Radiofréquences

Soutiendra publiquement ses travaux de thèse intitulés

*Biocapteur bactérien pour la détection de la toxicité de l'eau par spectroscopie d'impédance*

Travaux dirigés par Monsieur Pascal XAVIER et Madame Elise GHIBAUDO

Soutenance prévue le **mercredi 03 juin 2026** à 9h30

Lieu : Grenoble INP - Phelma - 3 Parv. Louis Néel, 38000 Grenoble

Salle : Z108

### Composition du jury proposé

M. Pascal XAVIER	PROFESSEUR DES UNIVERSITES	Université Grenoble Alpes	Directeur de thèse
Mme Elise GHIBAUDO	PROFESSEURE DES UNIVERSITES	Université Grenoble Alpes	Co-directrice de thèse
M. Philippe LÉVÊQUE	DIRECTEUR DE RECHERCHE	CNRS	Rapporteur
Mme Marie FRENEA-ROBIN	PROFESSEURE DES UNIVERSITES	Université Claude Bernard Lyon 1	Rapporteuse
M. Alain SYLVESTRE	PROFESSEUR DES UNIVERSITES	Grenoble INP - UGA	Examineur
Mme Cécile DUCLAIROIR POC	PROFESSEURE DES UNIVERSITES	Université de Rouen Normandie	Examinatrice
Mme Leticia GIMENO-MONGE	Université Grenoble Alpes	Invitée	

**Mots-clés :** capteurs électroniques intégrés, spectroscopie d'impédance, pollution environnementale, microbiologie

### Résumé :

Cette thèse présente le développement d'un dispositif dédié à la détection indirecte et rapide par des mesures spectroscopiques de la teneur en ions de milieux aqueux apportés par des bactéries. L'application visée est la conception d'un biocapteur de la toxicité de l'eau exploitant les bactéries comme sentinelles biologiques pour la surveillance des incidents chimiques. Pour y parvenir, deux prototypes ont été réalisés. Un premier intégrant des électrodes planaires en vis-à-vis et un deuxième composé de structures interdigitées sur un substrat de verre afin de maximiser l'interaction avec le milieu liquide et de viser un dispositif plus intégré permettant des mesures sur de plus petits volumes.

Les biocapteurs impédancemétriques microbiens tirent parti des variations de propriétés diélectriques d'un milieu biologique en fonction de la fréquence d'excitation. Ces propriétés, dictées par la composition du milieu (eau, ions) et l'état des biorécepteurs, évoluent avec la viabilité de ces derniers. Cependant, les biocapteurs nécessitent généralement l'immobilisation des biorécepteurs via des traitements chimiques pour maximiser leur sensibilité, ce qui limite la durée de vie, la répétabilité et augmente leur impact écologique. Dans le but d'évaluer un seuil de pollution sans spécificité à un agent précis, nous proposons une approche non fonctionnalisée. Ce choix permet de surmonter ces contraintes matérielles tout en garantissant une simplicité technologique et une robustesse accrue. Plus spécifiquement, le principe de détection par mesure d'impédance repose sur l'hypothèse selon laquelle l'exposition aux polluants altère la perméabilité membranaire des bactéries, induisant un relargage ionique. Cette modification du nombre d'ions à l'extérieur de la bactérie est mesurable via la conductivité globale de la solution aqueuse. La mesure s'effectue après une suspension des bactéries dans un milieu peu conducteur. Une estimation du nombre de charges ramenées par les bactéries lors de la mise en suspension avec ce milieu est proposée. Ainsi la conductivité de la solution est maîtrisée pour des bactéries saines. Un modèle mathématique exploitant les équations de Maxwell-Wagner est utilisé pour corréliser les variations de permittivité à la concentration et à l'état physiologique des bactéries. La plage de fréquences de mesure, s'étendant de 1kHz à 30MHz, a été spécifiquement choisie pour couvrir les phénomènes de relaxation  $\alpha$  et  $\beta$  liés aux interfaces membranaires. Ce choix permet d'observer les signatures diélectriques des populations bactériennes tout en conservant la réponse électrochimique du milieu aqueux. Le traitement de ces données d'impédance s'appuie sur la méthode de Distribution des Temps de Relaxation. Dans cette approche, le signal complexe est décomposé afin d'isoler les processus électrochimiques. Ce modèle de traitement permet de discriminer les signatures temporelles propres au milieu de celles spécifiquement attribuées à la présence biologique. D'autre part, des tests expérimentaux ont permis de démontrer l'efficacité du biocapteur à travers la détection de 15  $\mu\text{g/L}$  d'un antiparasitaire (Ivermectine) et de 10  $\mu\text{g/mL}$  d'un antibiotique (Ampicilline). La comparaison des spectres d'impédance bruts avec les données traitées par DRT a finalement permis d'isoler et d'observer précisément les effets physiologiques de ces polluants. À l'avenir, l'élargissement des fréquences d'analyse permettra d'étudier encore plus finement les altérations de la paroi bactérienne. La conception d'un capteur intégré de faible volume basé sur des électrodes interdigitées planaire est une des pistes étudiées. De plus, le couplage de ce biocapteur avec des systèmes microfluidiques ouvrira la voie à une surveillance multimodal.

### Summary:

This thesis focuses on the development of a device designed to enable rapid, indirect detection of ion concentration brought by bacteria in aqueous media using spectroscopic measurements. The targeted application is the design of a water toxicity biosensor, exploiting bacteria as biological chemical incident sentinels. For this purpose, two prototypes have been built. The first device consists of two electrodes in a parallel plate configuration; the second one uses a surface interdigitated electrode configuration on a glass substrate, on the path to a more integrated device allowing smaller liquid volumes as well as higher interactions with the medium. Microbial biosensors based on impedance spectroscopy tap on changes in dielectric properties of biological media as a function of excitation frequencies. These properties are driven by the medium composition (water, ions) as well as the state of the bioreceptors, and will thus change with the viability of the latter. However, biosensors often need to immobilise bioreceptors through chemical treatments in order to maximise sensitivity, hence limiting their durability and repeatability while also increasing their own ecological impact. In this work we propose a non-functionalised approach for the purpose of evaluating a global pollution threshold, without precise pollutant specificity. This choice allows to overcome material constraints while guaranteeing

technological simplicity and increasing robustness. More specifically, the detection principle using impedance measurements is based on the hypothesis that the membrane permeability of bacteria exposed to a pollutant will be altered, leading to an ionic release. This change in the number of ions outside of bacteria is measurable through the aqueous solution overall electrical conductivity. Measurements are performed after resuspension of bacteria in a weakly conductive medium. In these conditions, the conductivity for a solution containing healthy bacteria is controlled, subsequently allowing us to propose a theoretical estimation of the amount of charges brought by bacteria when resuspended. A mathematical model using Maxwell-Wagner equations is also developed to correlate variations in permittivity with bacterial concentration and physiological state. The frequency range, spanning between 1 kHz and 30 MHz, has been chosen to cover the  $\alpha$  and  $\beta$  relaxation phenomena, linked to membrane interfaces. To discriminate between the temporal signatures of the aqueous medium and those coming from the presence of biological material in the solution, signal processing for impedance data relies on the Distribution of Relaxation Times (DRT) method. In this approach, the complex signal is decomposed in order to isolate the different involved electrochemical processes. . Furthermore, experimental tests have successfully shown the biosensor functionality by detecting realistic concentrations of 15  $\mu\text{g/L}$  of an anthelmintic (Ivermectin) and 10  $\mu\text{g/mL}$  of an antibiotic (Ampicillin). Comparison of raw impedance spectra with DRT-treated data has allowed us to isolate and observe the physiological effects of these pollutants. For future work, increased frequency bandwidth will allow a finer study of bacterial cell wall alterations for high-conductive medium. The use of an integrated sensor based on planar interdigitated electrodes and needing smaller volumes will be one of the explored avenues. Additionally, the coupling of this biosensor with microfluidic systems will pave the way for a multimodal standalone robust water toxicity emergency detector.