

## Axe 1 : Méthodes séparatives avancées pour les mélanges complexes.

Séparer, identifier et quantifier plusieurs centaines, voire plusieurs milliers de composés présents dans un mélange complexes est toujours un challenge qui requiert une **démarche multidimensionnelle** obtenue par la combinaison de modes de séparations multi-dimensionnelles fonctionnant selon des principes différents, si possible avec l'analyse de la totalité de l'échantillon dans toutes les dimensions (mode "comprehensive"). Ces combinaisons font appels aux diverses méthodes chromatographiques (gaz, liquide, supercritique) et aux méthodes électrocinétiques (électrophorèse, électrochromatographie). L'obtention de la plus grande sélectivité dans chaque dimension est donc primordiale et des études fondamentales sur les mécanismes de séparation (notamment pour les modes mixtes et les phases ultrasélectives) sont le prérequis à leur combinaison efficace, en fonction de la diversité des structures chimiques des familles de composés cibles des échantillons.

Du fait de sa disponibilité, la GCxGC est rapidement devenue la méthode de choix pour l'analyse des mélanges complexes de composés volatils. Les efforts doivent maintenant porter sur la **combinaison de techniques utilisant une phase dense** (liquide ou, de façon plus innovante fluide supercritique) comme vecteur en vue de la séparation de molécules peu ou non volatiles issues de différents compartiments, les biomolécules constituant un objectif particulièrement important (lipidomique, métabolomique, protéomique...). Ceci requiert en particulier la conception de **nouvelles phases séparatives** pour diversifier l'offre en sélectivité (notamment des phases monolithiques afin d'aller vite sur la deuxième dimension), de **nouvelles technologies de colonnes** permettant des couplages de modes séparatifs innovants et l'obtention de très grandes efficacités et **d'interfaces (« modulateurs ») adaptées** aux différentes dimensions de séparation et aux vecteurs choisis (liquides, fluide supercritique pur ou en mélange)

L'association de toutes ces techniques à des **détecteurs apportant une information structurale** est un élément complémentaire et essentiel à cet axe, en particulier concernant les spectromètres de masse les plus performants et compatibles avec la séparation rapide généralement pratiquée en seconde dimension (axe transversal 8)

Enfin, pour faciliter le transfert vers des applications en routine, on recherchera une meilleure **gestion automatisée des données** générées par ces techniques (axe transversal 9).

L'analyse des mélanges complexes est au cœur de certaines des sciences dites « **omiques** » dont les outils de mesure relèvent principalement de la spectrométrie de masse. S'agissant de la protéomique ou de la métabonomique, l'ensemble des items présentés ci-dessus présente un très haut degré de pertinence. Ainsi, le très faible nombre de travaux conduits en toxicologie qui font appel à l'analyse protéomique ou métabonomique justifie-t-il qu'un effort particulier soit réalisé dans ce domaine. Plusieurs enjeux à très forte valeur ajoutée pour le patient ou à impact sociétal fort apparaissent dans ces domaines analytiques. En toxicologie clinique, les « omiques » faciliteront la découverte de marqueurs de susceptibilité des patients aux traitements (intoxications iatrogéniques) ainsi que l'évaluation de leurs capacités métaboliques, sujet crucial dans le cadre de la prise en charge des polyintoxications. La toxicologie environnementale n'est pas en reste, où le manque de marqueurs d'exposition à long terme aux xénobiotiques, spécialement en mélanges, représente un écueil majeur pour les mesures d'impact et d'évaluation du risque. Il en est de même de l'influence des polluants environnementaux en toxicologie placentaire, largement méconnue quoique d'une importance considérable ou encore de la métabolisation par la biomasse, susceptible d'engendrer des éléments toxiques dont la nature reste encore peu connue.

## Axe 2 : Détection de traces et d'ultratraces

Les enjeux analytiques sont majoritairement confrontés à la détection et quantification de composés traces. Le **traitement des échantillons** est toujours l'étape limitante de la chaîne analytique. Les priorités sont : (i) **abaisser les seuils de détection** et de quantification des méthodes actuelles (avec le développement d'étapes de traitement de l'échantillon qui minimisent voire suppriment l'utilisation de solvants tout en assurant un enrichissement des traces), (ii) **améliorer la sélectivité des méthodes** (développement d'étapes d'extraction plus performantes avec la conception et l'étude de nouveaux support très sélectifs, utilisation de techniques d'analyse à très haute résolution), (iii) **identifier de nouveaux composés présents à l'état de traces ou d'ultra-traces** (notamment par couplage des techniques séparatives avec la spectrométrie de masse haute résolution). La spectrométrie de masse est l'outil de prédilection en la matière pour l'identification, mais des champs d'investigation sont ouverts pour innover sur de nouveaux concepts instrumentaux (développement de phases hyper-sélectives sur système miniaturisé par exemple). De nombreux immunoessais, bioessais enzymatiques et biocapteurs sont très sensibles aux effets de matrices, ce qui nuit fortement à leur emploi alors que ce sont des méthodes de terrain idéales. Les coupler de façon intelligente à une extraction sélective rapide est une voie qui n'a pas encore été vraiment explorée. Ceci est d'autant plus important si le format du bioessais est miniaturisé sous forme de microsysteme.

**L'association de l'étape d'extraction à l'étape de séparation est obligatoire lors de la conception de microsystemes** si bien que le développement **d'outils d'extraction très sélectifs** est plus que jamais d'actualité. Ces outils sont basées sur l'utilisation de divers objets de reconnaissance moléculaires (anticorps, aptamères et autres brins d'ADN ou d'ARN, molécules complexantes à base de cyclodextrines ou d'éther couronnes, polymères à empreinte moléculaire..) ou basés sur une activité (récepteurs, enzymes..). Ils sont généralement greffés sur des supports solides. Ces phases, couteuses et peu utilisées en format classique, ont pourtant un potentiel énorme. Leur utilisation dans les microsystemes et lab-on-chip implique de repenser leur synthèse pour les obtenir directement sous forme de phases solides in situ, de les greffer sur des micro- ou nanoparticules ou des micromembranes. Cet axe de recherche est incontournable pour l'analyse de traces du futur.

Les applications à la toxicologie analytique sont nombreuses et variées. Des aspects de la toxicologie, très consommateur de mesures à l'état de trace sont les études épidémiologiques. Des méthodes à haut débit, ne consommant que très peu de solvant, automatisables et ciblant les composés recherchés doivent être développées pour permettre d'acquérir des données plus nombreuses, fiables et à moindre coût. Certains composés et certaines matrices nécessitent encore des développements : ainsi une attention particulière et prioritaire sera donnée à l'étude de la spéciation à l'état de trace qui reste un grand défi analytique lors de l'étape d'extraction et qui est d'un grand intérêt pour la toxicologie. Citons également l'analyse des composés exogènes et néoformés dans les aliments, la détermination des perturbateurs endocriniens (plastifiants, retardateurs de flammes, etc....) et autres toxiques suite au relargage aux interfaces solide/liquide. Dans le domaine de l'adductome aux protéines où a l'ADN, le prétraitement de l'échantillon est une étape clé dans le mesure ou plusieurs ordres de grandeur existent entre les macromolécules modifiées de façon covalente par les xénobiotiques et les espèces non modifiées (problème de diversité structurale associé à celui de d'identification des modifications où la recherche de sensibilité est une nécessité).

### **Axe 3 : Analyse in situ, in vivo, en ligne (capteurs, bioessais, biocapteurs...).**

En raison de leur simplicité, rapidité et faible coût, les tests de diagnostic rapides comme les bioessais ou les dispositifs analytiques du type capteurs chimiques ou biocapteurs sont les plus aptes à répondre aux demandes d'analyses rapides *in situ* et de terrain, qu'ils soient miniaturisés ou non. Leur grand avantage est leur très bas seuil de détection, si bien que théoriquement, les composés peuvent être analysés à l'état de traces sans préconcentration de l'échantillon. Ils sont également aptes à répondre à la directive REACH qui préconise la suppression des bioessais utilisant les animaux.

Les bioessais les plus répandus utilisent des outils de reconnaissance structurale (immunoessais) ou sont basés sur le mode d'action des molécules (inhibition ou activation enzymatique, fixation sur récepteur, action cellulaire...). Autant la compréhension de ces mécanismes relève d'autres champs disciplinaires que ceux présents dans le DIM Analytics, autant leur développement implique forcément une validation sur le terrain par des experts en chimie analytique, car ils peuvent être sensibles aux effets de matrice surtout environnementales (voir axe 2).

Les biocapteurs allient un élément biologique sélectif (anticorps, enzyme, ADN, cellule...) à un transducteur. Leur caractère compact, grande spécificité, faible coût, sensibilité et portabilité sont autant de raisons permettant de penser qu'ils pourraient compléter voir supplanter les techniques existantes dans ces domaines.

En milieu industriel, il apparaît une forte demande au niveau des capteurs/biocapteurs pour le suivi en ligne des différentes étapes de production et pour le contrôle de la qualité des produits finis. Des avancées significatives sont attendues grâce à l'analyse *in situ*, en temps réel, sans prélèvement et intervention humaine, qui pourraient aller jusqu'au pilotage complet du procédé, avec un contrôle qualité « total » (et non plus en fin de chaîne, ou par échantillonnage statistique).

Parmi les différents types de transducteurs envisageables (optique, thermique, acoustique, électrochimique, plasmonique, etc...), les capteurs et biocapteurs électrochimiques (ampérométrie, potentiométriques, conductimétriques, ...) sont très attractifs car ils offrent d'excellentes performances pour de faibles coûts et une intégration et miniaturisation aisée, tout en restant simple d'utilisation et facile à produire en masse (électrodes jetables) comme le démontre le succès commercial du biocapteur à glucose. Pour certaines applications, les capteurs électrochimiques permettent une analyse en temps réel et sans marquage. C'est le cas par exemple du suivi de l'activité biologique d'une cellule vivante ou d'un groupe de cellules vivantes à l'aide de micro ou nanoélectrodes. Couplés à des techniques spectroscopiques (UV-visible, IR Raman, fluorescence), les capteurs électrochimiques peuvent également devenir de puissants outils d'analyse multiparamétriques.

Les progrès en synthèse moléculaire, biologie moléculaire, génie génétique, informatique, fonctionnalisation de surface, microélectronique, micro et nanotechnologies, ou encore métrologie et traitement de l'information ouvrent des perspectives considérables pour le développement de (bio)capteurs toujours plus performants et de plus en plus miniaturisés et intégrés, pouvant par exemple être introduits en grand nombre dans des microsystèmes analytiques multiparamétriques, intelligents et communicants. On peut ainsi espérer développer des ligands et/ou biorécepteurs avec des spécificités, sensibilités et stabilités sans cesse améliorées, comme récemment les aptamères et aptazymes.

L'un des enjeux majeurs va être de développer des dispositifs multiparamétriques miniaturisés de plus en plus intégrés, tout en restant le plus simple possible d'utilisation et le moins coûteux (les approches du type micro-fluidique sur papier avec détection électrochimique sont un bon exemple). Un autre objectif prioritaire qui ressort des domaines de la santé, de l'agroalimentaire et de la sécurité, est la nécessité de développer des tests rapides de détection d'ADN pour le dépistage d'agents pathogènes, un enjeu de plus en plus crucial pour les pouvoirs publics. L'exploration de nouvelles approches combinant des techniques d'amplification isotherme de l'ADN avec des méthodes de détection aussi simples que l'électrochimie doit pouvoir permettre répondre à cette nécessité.

## Axe 4 : Analyse à distance.

Le développement de l'analyse à distance demeure un axe de recherche important, qui concerne en particulier **l'analyse en milieux extrêmes** (milieux corrosifs, à haute température, radioactifs) ou ceux qui ne sont **pas facilement accessibles au prélèvement** (milieux hostiles, signal rapide ou évanescent, analyses élémentaires sur fonds marins, roches martiennes, aérosols ou particules dans l'atmosphère, colis suspects par exemple). Les enjeux sont à la fois la compétitivité industrielle, avec toutes les problématiques de suivi, de contrôle de procédé, de l'impact environnemental et même de pilotage optimisé d'une usine du futur, et à la fois la maîtrise et la surveillance de notre environnement, l'air et l'atmosphère, l'impact de la pollution sur monuments historiques, la reconnaissance d'objets suspects, pour ne citer que quelques exemples.

Si la mesure est rapide, on peut également développer des techniques d'imagerie, de cartographie, d'étude en dynamique (acquisition de tirs répétitifs).

Dans une méthode d'analyse classique, la part réservée à l'échantillonnage, au prélèvement, et à la préparation de l'échantillon (pré-séparation, concentration, suppression d'interférents etc...), à l'étalonnage, sont souvent des maillons indépendants de la chaîne analytique. Dans le cas d'une mesure à distance, ces étapes font intrinsèquement partie de la donnée à traiter, pour en extraire la mesure. Dans le cas de milieux hétérogènes, complexes, naturels avec toute leur variabilité, les difficultés sont amplifiées. Le **défi scientifique majeur** et prioritaire de cet axe est bien ainsi le **traitement de l'information**, avec des progrès considérables attendus avec le développement de la chimiométrie (déconvolution des données, plan d'expériences, ACP, PLS, réseaux neuronaux,...), de la simulation (comparaison en temps réel du signal expérimental avec une modélisation) et l'émergence de nouvelles stratégies analytiques.

Les méthodes d'analyse concernées sont essentiellement fondées sur **l'utilisation du rayonnement optique**. Les principes de mesure mis en jeu exploitent les différents phénomènes physiques induits par l'interaction rayonnement-matière : absorption, fluorescence induite, émission optique, diffusion. Toutes les techniques spectroscopiques d'analyse utilisées couramment à l'échelle du laboratoire sont donc potentiellement applicables à l'analyse à distance (absorption IR ou UV visible, Spectrométrie de lentille thermique, Spectrométrie de fluorescence induite par laser en phase atomique ou moléculaire, Spectrométrie d'émission sir plasma induit par laser, Spectrométrie de diffusion Raman ). Au plan instrumental, les lois de la physique imposent que l'intensité d'une source lumineuse perçue par un observateur décroît comme le carré de la distance qui les sépare. Il en résulte donc que la mise en œuvre de l'analyse à distance tend à dégrader fortement la sensibilité de mesure. C'est pour cette raison qu'on utilise de préférence les sources laser dont les propriétés particulières permettent le transport du faisceau sur de grandes distances sans perte d'intensité. Une excellente connaissance de **l'interaction laser-matière** est nécessaire pour modéliser les systèmes et leurs performances de manière à savoir concevoir, au cas par cas, des instruments adaptés aux besoins. La priorité pour cette axe est donc bien ainsi de développer un projet innovant, en rupture dans le domaine du traitement quantitatif du signal, en synergie avec les autres axes scientifiques du GIS Analytics (chimiométrie, traces et ultra-traces, analyse in situ, analyses de surfaces, caractérisation nanométrique miniaturisation par exemple), en accordant la priorité au domaine de la surveillance de l'environnement.

## Axe 5 : analyse des surfaces.

La plupart des nouvelles technologies ou des technologies émergentes dans les domaines du transport (aéronautique, automobile), de l'énergie (production et stockage), de la santé (dispositifs médicaux), de l'environnement (réduction, stockage, transformation du CO<sub>2</sub>) nécessitent le développement de matériaux nouveaux dont les performances doivent être maintenues sur des durées de vie de plus en plus longues dans des environnements de plus en plus contraignants (température, pression, pH). L'interaction des surfaces de ces matériaux avec leur environnement constitue ainsi un enjeu majeur du point de vue scientifique, technique, économique et sociétal. De ce fait l'analyse chimique et l'imagerie des surfaces prennent une importance croissante.

Les enjeux majeurs sont la mise au point de nouvelles techniques d'analyse et d'imagerie des surface permettant une haute résolution et le développement de protocoles d'analyse originaux et de méthodes de quantification des données. Une autre priorité consiste en l'utilisation combinée et le couplage de plusieurs méthodes analytiques.

L'aspect toxicologie est aussi très important dans cet axe, due à l'interaction entre les matériaux et l'environnement. C'est un point essentiel en toxicologie alimentaire, mais aussi en toxicologie professionnelle, due au relargage aux interfaces solide/liquide de perturbateurs endocriniens (plastifiants, retardateurs de flammes, etc....) et autres toxiques. C'est un aspect particulièrement important pour les matériels et dispositifs médicaux avec expositions à long terme (prothèses de tout type).

Le GIS Analytics servira de cadre parfaitement adapté au développement et à la coordination en Ile-de-France d'équipements d'analyse des surfaces s'appuyant sur plusieurs spectroscopies : spectroscopie de photoélectrons, spectroscopie ionique, et méthodes utilisant des faisceaux d'ions de haute énergie.

## Axe 6 : Caractérisation nanométrique

Depuis quelques années, les nanosciences sont devenues centrales pour la compréhension et l'élaboration des matériaux et assemblages fonctionnels du futur. Les sciences analytiques ont dû faire face aux nouvelles demandes de caractérisation avec notamment l'obligation de travailler avec des outils adaptés aux dimensions des objets ou des matériaux mis en œuvre (microfluidique, micro analyseurs en ligne, etc.). Les défis en cours comportent l'étude de l'organisation de la matière « molle » à l'échelle nanométrique et des propriétés inédites de nouveaux nanomatériaux ou systèmes fonctionnels, ainsi que l'évaluation de leurs effets toxicologiques potentiels, qui est un enjeu sociétal majeur pour l'acceptation des nanosciences. Le rôle des sciences analytiques est de permettre d'atteindre et de caractériser les propriétés fines des objets (taille, forme, état chimique et redox, agrégation dans les milieux d'études, organisation, etc.), connaissances indispensables à la compréhension du lien entre l'état physico-chimique de la nanoparticule et ses effets sur le milieu concerné. Ces points seront être menés en collaboration avec les chimistes, les physiciens et les biochimistes impliqués dans des réseaux (DIM, labex) complémentaires.

Une des particularités de cet axe est de s'appuyer sur des techniques expérimentales puissantes telles la microscopie à force atomique, la microscopie confocale, la diffusion de rayons X ou de neutrons aux petites angles et un ensemble de techniques d'étude des interfaces utilisant le rayonnement synchrotron.