



# **Développement d'un senseur électrochimique pour le dosage des nitrates au laboratoire et en pépinière forestière**

**Mémoire**

**William-Olivier Caron**

**Maîtrise en chimie**  
Maître ès sciences (M.Sc.)

Québec, Canada

© William-Olivier Caron, 2016



# Résumé

Le lessivage des nitrates, la contamination de la nappe phréatique et l'eutrophisation des cours d'eau figurent parmi les enjeux planétaires qui affectent la durabilité de l'agriculture et des ressources naturelles. Ce mémoire présente le développement d'une première génération d'un nouveau capteur électrochimique pour le dosage de précisions des nitrates. Celui-ci est basé sur la spectroscopie d'impédance électrochimique d'une membrane polymérique sélective aux ions. Grâce à cette approche, un capteur compact et abordable a été produit. Par son utilisation en solutions aqueuses et en substrats de croissance saturés, il a été montré que le capteur permettait de quantifier des ajouts contrôlés de nitrates allant de 0,6 ppm à 60 ppm. La mise en application en substrat de croissance a pu être étudiée en comparaison avec des méthodes certifiées ISO 17025 visant l'analyse de ces substrats. Le capteur a aussi montré une grande versatilité par son utilisation sur divers appareils de mesure d'impédance. En plus, il a démontré une stabilité possible suite à une implantation d'un mois directement en substrat de croissance sous les variables environnementales d'une pépinière forestière. Par l'étude du spectre d'impédance du capteur en solutions pures de différentes concentrations, il a aussi été possible de proposer le circuit électrique équivalent du système, qui met en évidence deux parcours compétitifs du courant, un au cœur de la membrane et un deuxième en solution. Les résultats de ces travaux sont au cœur de deux publications scientifiques dont le manuscrit est inclus à ce mémoire. Pour finir cette étude, des suggestions seront faites pour guider l'amélioration du capteur par le développement d'une deuxième génération de celui-ci.



# Abstract

The nitrate leaching represent a serious problematic because of ground water contamination, surface water eutrophication and soil degradation. The need for a better quantification tools to acquire data on the use of fertilizer is for great interest. This thesis presents the development of the first generation of a new electrochemical sensor for nitrate quantification based on the electrochemical impedance spectroscopy of an ion selective polymeric membrane. With this approach, a compact and cheap sensor has been produced. By its usage in aqueous solution and saturated growing media, it has been shown that the sensor allows the quantification of controlled nitrate additions from 0.6 ppm to 60 ppm. The practical application in growing media has been compared to ISO-17025 certified methods of growth medium analysis. Moreover, the sensor showed great versatility by its compatibility to many impedance measurement apparatus. Also, it has shown great stability under variables environmental condition during one month in a forest nursery. Through the impedance spectra obtained in pure solution at different concentrations, an equivalent electrical circuit has been established for the system, showing two competitive pathways for the current. The first one is going through the membrane and the second is reaching into the solution. The results of these experiments are reported in two scientific publications and included in this thesis. In conclusion, a second generation of sensor is needed to improve the quality performance regarding their selectivity and temporal stability.



# Table des matières

Résumé.....	iii
Abstract.....	v
Table des matières.....	vii
Liste des tableaux.....	xi
Liste des figures.....	xiii
Liste des abréviations et des sigles.....	xvii
Remerciement.....	xxi
Avant-Propos.....	xxiii
Introduction.....	1
Objectifs du projet.....	3
Chapitre 1 : Description de la problématique.....	5
1.1 Analyse <i>in situ</i> .....	5
1.2 Analyses en pépinière forestière.....	6
1.3 Nitrates et environnement.....	8
1.4 État de l'art de l'analyse ionique.....	8
1.4.1 Senseur potentiométrique.....	8
1.4.2 Senseur coulométrique.....	12
1.4.3 Transistor à effet de champs sélectif aux ions.....	13
1.4.4 Optodes.....	14
Chapitre 2 : Cadre théorique.....	15
2.1 Azote et le nitrate.....	15
2.1.1 Cycle de l'azote.....	15
2.1.2 Chimie du nitrate.....	16
2.2 Substrats de croissance en pépinière forestière.....	18
2.2.1 Composition.....	18
2.2.2 Texture.....	19
2.2.3 Propriétés physico-chimiques.....	20
2.3 Membrane sélective aux ions.....	22
2.3.1 Matrice : le polymère et le plastifiant.....	23
2.3.2 Agents actifs : l'ionophore et le site ionique.....	24
2.4 Spectroscopie d'impédance électrochimique.....	25

2.4.1 Définitions .....	25
2.4.2 Présentation des résultats .....	29
2.4.3 Détermination du circuit équivalent.....	30
Chapitre 3 : Cadre méthodologique.....	35
3.1 Préparation des senseurs électrochimiques .....	35
3.1.1 Composantes du senseur.....	35
3.1.2 Protocole de fabrication .....	38
3.2 Analyse électrique en solutions.....	40
3.3 Analyse électrique en substrats de croissance .....	42
Chapitre 4 : Résultats et discussion des mesures d'impédance en solutions .....	43
4.1 Mesures électriques en solutions pures .....	43
4.2 Mesures de sélectivité au nitrate.....	48
4.3 Mesure en solutions pures avec une membrane épaisse .....	50
Chapitre 5 : Electrochemical Impedance Sensors for Monitoring Trace Amounts of NO <sub>3</sub> in Selected Growing Media.....	53
5.1 Résumé.....	55
5.2 Abstract.....	55
5.3 Introduction .....	55
5.4 Chemistry of the EIS Sensor .....	57
5.4.1 EIS Nitrate Sensor Structure.....	57
5.4.2 Medium under Test.....	58
5.5 Experimental Setup and Results.....	58
5.5.1 Measurement Setup .....	58
5.5.2 Measurement Results.....	59
5.5.3 Measurement Non-Linearity.....	60
5.5.4 Equivalent Electrical Circuit .....	62
5.5.5 Sensor Circuit Miniaturization .....	63
5.6 Field Testing in Tree Nursery Under ISO/IEC 17025 Certifications .....	65
5.7 Conclusions.....	66
5.7.1 Acknowledgments.....	67
Chapitre 6 : Practical application of electrochemical nitrate sensor under laboratory and forest nursery conditions .....	69
6.1 Résumé.....	71
6.2 Abstract.....	71



6.3 Introduction .....	71
6.4 Materials and Methods.....	73
6.4.1 Electrochemical sensors and impedance measurements .....	73
6.4.2 Growth medium selection and nitrate measurements .....	74
6.4.3 Stability of the sensor in forest nursery.....	75
6.4.4 Comparison of determination of nitrates by the sensor and the certified laboratory methods during the first growing season of white spruce seedlings in forest nursery.....	77
6.5 Results .....	79
6.5.1 Calibration of electrochemical nitrate sensors in solutions with LCR-meter .....	79
6.5.2 Nitrate quantification in growing medium with solutions .....	79
6.5.3 Nitrate quantification in multi-ion fertilized growing medium .....	81
6.5.4 Evaluation of sensors stability under forest nursery conditions and variability .....	82
6.6 Discussion .....	85
6.7 Conclusions .....	86
6.7.2 Acknowledgments .....	87
Conclusion .....	89
Limites de l'étude .....	91
Travaux futurs .....	92
Bibliographie .....	95
Annexes .....	103



## Liste des tableaux

- Tableau 1.1 :** Informations caractéristiques de certaines ISE retrouvées dans la littérature dont l'ionophore, la plage de réponse linéaire, la pente de la réponse, la plage stable de pH, la durée de vie et la sélectivité selon  $\text{Log } K_{\text{NO}_3^-, A^-}^{\text{pot}}$  vis-à-vis les ions (A<sup>-</sup>) NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Cl<sup>-</sup> et ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>. Le senseur \*1 provient des travaux d'Ardakani et al. 2004 [52], le 2 d'Ortuno et al. 2004 [49], le 3 de Thoo et al. 2005 [48] et le 4 d'Asghari et al. 2003 [50]. p.12
- Tableau 2.1 :** Informations caractéristiques d'une sélection d'ions dont le rayon, l'énergie libre de Gibbs d'hydratation ( $\Delta G_{\text{hyd}}^{\ominus}$ ), l'enthalpie standard d'hydratation ( $\Delta H_{\text{hyd}}^{\ominus}$ ), l'entropie standard d'hydratation ( $\Delta S_{\text{hyd}}^{\ominus}$ ), le volume molaire partiel standard ( $\tilde{V}_m^{\ominus}$ ) [39] et la mobilité relative de l'ion par rapport au potassium (conductivité ionique limite dans l'eau à 298 K = 7,350  $\lambda_{+}^{\ominus}$  /mS m<sup>2</sup>mol<sup>-1</sup>) [71, 72]. p.17
- Tableau 2.2 :** Réponses des composants électriques communs selon une mesure du courant en fonction du voltage ou d'une mesure d'impédance (Adapté de C. Beasley 2015 [87]). p.29
- Table 6.1 :** Physicochemical information about selected potting medium and its components. The data were obtained under analysis at a certified laboratory ISO-17025. They are the average of three samples of each type. p.74
- Table 6.2 :** Physicochemical information about sampled growth medium identify by sampling period. The data were obtained under analysis at a certified laboratory ISO-17025. \*Those sample has been kept refrigerated below 0 °C. p.78
- Tableau A1 :** Compilation d'informations liés aux ISE dont le registre de concentration mesuré, les ions interférences et des exemples de domaines d'utilisation (adapté de H. H. Girault 2004 [40]). p.103



# Liste des figures

- Figure 1.1 :** Schématisation d'une ISE contenant l'échantillon (Sample), la membrane sélective aux ions (Ion-Selective Membrane), l'électrolyte interne (Inner Electrolyte) ainsi que son électrode de mesure d'Ag/AgCl et l'électrode de référence (Reference Electrode) contenant un capillaire (Capillary), un électrolyte de jonction (Bridge Electrolyte), un diaphragme (Diaphragm), un électrolyte de référence (Reference Electrolyte) et son électrode d'Hg/Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> connectée via un voltmètre (EMF). (Sutter et al. 1999 [12]) p.9
- Figure 1.2 :** Schématisation du potentiel de surface de la membrane sélective d'une ISE qui trace la concentration de l'ion d'intérêt en solution ( $C_{i,aq}$ ) et à l'interface échantillon (Sample) – membrane (ISE membrane) ( $C'_{i,aq}$ ), la concentration de liant en membrane à la même interface ( $C'_{L,m}$ ) et à l'interface membrane – solution interne (Internal Solution) ( $C''_{L,m}$ ), la concentration de l'ion interne à cette deuxième interface ( $C''_{i,aq}$ ) et à l'intérieur de la solution interne ( $C_{i,aq}$ ). Le schéma présente aussi la concentration de sites ioniques fixes dans la membrane ( $C_{R,m}$ ). Tous ces éléments sont évalués selon leur position dans l'espace relative aux interfaces. (Sutter et al. 2004 [41]) p.10
- Figure 1.3 :** Schématisation d'un système microfluidique pour la mesure coulométrique des ions et la coupe transversale du canal entre l'entrée (Inlet) et la sortie (Outlet). Le système est composé de a) une électrode de travail Ag/AgCl d'un diamètre de 500  $\mu\text{m}$ , b) une couche mince d'échantillon, c) un tube creux de polypropylène d'un diamètre de 600  $\mu\text{m}$  dopé pour servir de membrane sélective aux ions et de d) une connexion pour l'électrode. (Grygolowicz-Pawlak et al. 2010 [60]) p.13
- Figure 1.4 :** Schématisation d'un ISFET organique qui applique un potentiel  $I_d$  entre la source et le drain en sondant la différence de potentiel  $V_d$  entre ces deux mêmes éléments et la différence de potentiel  $V_g$  entre la source et la grille (gate). Dans ce système déposé sur un substrat (substrate) de verre, l'analyte est directement en contact avec la membrane sélective aux ions (ISM) qui repose sur un électrolyte en gel (gel electrolyte) qui repose à son tour sur un couche de poly(3,4-éthylènedioxythiophène)-poly(styrène sulfonate) (PEDOT:PSS) qui joint la source et le drain. (Sessolo et al. 2014 [63]) p.14
- Figure 2.1 :** Formes de résonance de l'ion nitrate p.17
- Figure 2.2 :** Modélisation des échanges ioniques à l'interface membre-échantillon. Les trois scénarios possibles selon la composition de la membrane son a) sans site ionique, b) avec un excès de site ionique et c) dans un ratio excédentaire de 2 pour 1 pour l'ionophore. p.25
- Figure 2.3 :** Illustration du vecteur d'impédance complexe  $Z$  tracé dans un graphique plaçant sa partie imaginaire  $Im$  en fonction de sa partie réelle  $Re$ , selon ses coordonnées polaires  $|Z|$  et  $\varphi$ , puis en coordonnées cartésiennes  $R$  et  $X$ . [40] p.26
- Figure 2.4 :** Courbe du courant  $I$  en fonction du potentiel  $E$  illustrant un domaine pseudolinéaire du courant  $dI$  face à l'application d'un potentiel alternatif sinusoïdal  $dE$ . p.27
- Figure 2.5 :** Impédance complexe d'un circuit RC en série selon a) un Bode du module  $|Z|$ , b) un Bode de la phase  $\Phi$ , c) le Nyquist et d) le circuit équivalent où  $R = 1 \text{ k}\Omega$  et  $C = 1 \mu\text{F}$  [40] p.31
- Figure 2.6 :** Impédance complexe d'un circuit RC en parallèle selon a) un Bode du module  $|Z|$ , b) un Bode de la phase  $\Phi$ , c) le Nyquist et d) le circuit équivalent où  $R = 1 \text{ k}\Omega$  et  $C = 1 \mu\text{F}$  [40] p.32
- Figure 2.7 :** Impédance complexe d'une cellule de Randle selon a) un Bode du module  $|Z|$ , b) un Bode de la phase  $\Phi$ , c) le Nyquist et d) le circuit équivalent où  $R_s = 500 \text{ }\Omega$ ,  $R_{ct} = 1 \text{ k}\Omega$ ,  $C_d = 1 \mu\text{F}$  et le facteur de Warburg  $\sigma = 1000 \text{ }\Omega \cdot \text{rad}^{1/2} \cdot \text{s}^{-1/2}$ . [40] p.33

<b>Figure 3.1</b> : Les différentes molécules composant la membrane sélective aux ions : a) PVC, b) BEHP, c) NiTMTAA et d) TOMAC	p.36
<b>Figure 3.2</b> : Réactions de la synthèse du NiTMTAA, un macrocycle de Geodken où a) est la réaction de cyclisation en présence du nickel et b) est la réaction de cyclisation en absence du métal. [91]	p.36
<b>Figure 3.3</b> : Photo de la membrane sélective aux nitrates en solution dans du THF.	P.38
<b>Figure 3.4</b> : Photo de la tête du senseur électrochimique avec a) un bulbe de membrane sélective complet, b) une coupe transversale du bulbe de membrane sélective et c) sans la membrane.	p.39
<b>Figure 3.6</b> : Schématisation de l'interface de connexions au Gain/Phase Analyser 1260 de Solartron par l'utilisation de câbles BNC-sonde brancher sur le senseur électrochimique (Item under test) et mis à la terre (external node) [95]	p.41
<b>Figure 4.1</b> : Courbe de calibration de la résistance électrique en fonction de la concentration de nitrate pour un senseur électrochimique.	p.44
<b>Figure 4.2</b> : Courbe de calibration de la capacitance en fonction de la concentration de nitrate pour un senseur électrochimique.	p.45
<b>Figure 4.3</b> : Courbes de calibrations de différents senseurs sélectionnés pour représenter la membrane sélective décomposée.	p.46
<b>Figure 4.4</b> : Courbes de calibration d'un senseur électrochimique pour l'évaluation de sa sélectivité au chlorure, bromure, sulfate et phosphate.	p.48
<b>Figure 4.5</b> : Courbes de calibration du senseur avec ionophore seul pour l'évaluation de la sélectivité au phosphate, au chlorure et au sulfate de magnésium.	p.49
<b>Figure 4.6</b> : Courbe de calibration du senseur avec membrane épaissie.	p.51
<b>Figure 5.1 (a)</b> Picture of the polyvinyl chloride-bis(2-ethylhexyl) phthalate (PVC-BEHP) electro-chemical nitrate sensor; <b>(b)</b> Schematics of the main electrical conduction paths, one within the polymer membrane and the other into the medium under test; and <b>(c)</b> Equivalent electrical circuit of the sensor.	p.57
<b>Figure 5.2</b> Real <b>(a)</b> , Imaginary <b>(b)</b> , Phase <b>(c)</b> , and Nyquist <b>(d)</b> impedance spectra of the immersed PVC-BEHP electrochemical nitrate sensors, at 200 mV AC amplitude, through a wide range of nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) concentrations using $\text{KNO}_3$ -containing water solutions.	p.59
<b>Figure 5.3</b> Impedance spectra (Modulus and Phase) of the PVC-BEHP electro-chemical nitrate sensors, at 10 mV (green dots), 200 mV (red dots), and 1 V (black dots) AC amplitudes, showing the measurement dependency with respect to the applied AC amplitude.	p.60
<b>Figure 5.4</b> (Red dots) Nyquist response at 200 mV of the PVC-BEHP electro-chemical nitrate sensor through wide a range of nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) concentrations. (Green lines) Fitting results using the equivalent electrical circuit model illustrated in Figure 5.1c.	p.62
<b>Figure 5.5</b> Comparative sensor impedance measurements made between the AD5933 microelectronics platform and the Solartron Impedance Analyzer.	p.64
<b>Figure 5.6</b> Field test results performed in growing medium selected from a white spruce tree nursery, showing the real part of the measured sensor impedance (in $\text{M}\Omega$ ) at 1 kHz AC frequency compared against the ISO/IEC 17025-certified colorimetric $\text{NO}_3^-$ concentration measurements.	p.65

- Figure 6.1** Production of white spruce seedlings in a standard production tunnel at Grandes-Piles (Québec, Canada). Note in the corner to the bottom right the insertion of a sensor into a cavity of 25-310 containers in the presence of a white spruce seedling. p.76
- Figure 6.2** Electrochemical sensors calibration curves using  $\text{KNO}_3$  solutions. Each sensor presents a fitting that cover the linear portion of the signal and that is assigned by color. p.79
- Figure 6.3** Electrochemical measurement in a) impedance and b) concentration results obtained from saturated potting medium and in c) impedance and d) concentration results obtained from its filtrate. Electrical resistance and calculated concentration are compared to colorimetric measured nitrate concentration. p.80
- Figure 6.4** a) Quantification of fertilization season samples by impedance measurement. Each sensor was associated to a linear regression to illustrate the linearity of the association. b) Illustrate the nitrate concentration calculated from the fitting obtained in solution as c) is obtained using the fitting obtained in nitrate doped potting medium. p.82
- Figure 6.5** Environmental data covering the exposition time of the sensors to forest nursery conditions including a) temperature maximal (Max T\_) and minimal (Min T\_) inside (tun(1.5m)) and outside (Ext) of the tunnel, and at the surface (plant) and in rhizosphere of the substrate (GrowMed), b) the light exposition inside (Quantum) and outside (Quantum\_ext) of the tunnel, c) irrigation on a daily basis and cumulative, and d) relative humidity minimal (Min Hum\_) and maximal (Max Hum\_) for inside (tun) and outside (Ext) the tunnel. The black arrow indicates the date of the removal of the tunnel coverage corroborated by the superposition of many data from inside and outside. p.83
- Figure 6.6** Calibration curves obtained by pure  $\text{KNO}_3$  solutions before and after a month of exposition to medium under forest nursery environmental conditions. The sensors are addressed as a) sensor #1, b) sensor #2 and c) sensor #3. p.84
- Figure A.1** Illustration de l'impédance complexe selon a) un Bode du module  $|Z|$ , b) un Bode de la phase  $\Phi$ , c) le Nyquist et d) le circuit équivalent où  $R_1 = 500 \text{ Ohm}$ ,  $R_2 = 1 \text{ kOhm}$  et  $C = 1 \mu\text{F}$  [40]. p.104
- Figure A.2** Montage utilise pour la prise de mesures d'impédance en substrat de croissance saturé au laboratoire certifié. p.104





# Liste des abréviations et des sigles

Al : Aluminium

BEHP : Bis-ethylhexyl phtalate

BNC : Bayonet Neill-Concelman

C.E.C. : Capacité d'échange cationnique

CMOS : Plateforme de micro-électronique - Complementary Metal Oxide Semi-conductor

EDTA : Éthylène diamine tétra-acétique

EIS : Spectroscopie d'impédance électrochimique – Electrochemical Impedance Spectroscopy

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture - Food and Agriculture Organisation of the United Nations

FDR : Réflectométrie fréquentiel – Frequency-Domain Reflectometer

Fe : Fer

g : Gramme

Ha : Hectare, équivaut à 10 000 mètres carrés

Hz : Hertz

ISE : Électrode sélective aux ions – Ion-Selective Electrode

ISFET : Transistor à effet de champs sélectifs aux ions – Ion-Selective Field Effect Transistor

ISO/CEI :

K : Potassium

kHz : Kilohertz

kg : Kilogramme

L : Litre

LCOI : Laboratoire de Chimie Organique et Inorganique

MFFP : Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs

mg : Milligramme

Mg : Magnésium

ml : Millilitre

mm : Millimètre

$M_n$  : Masse molaire en nombre

Mol : Mole

ms : Milliseconde

$M_w$  : Masse molaire en masse

$\mu\text{m}$  : Micromètre

N : Azote

NED : N – (1 –naphtyl) – éthylènediamine dihydrochloride

NiTMTAA : tétraméthyl cyclotétra-décanato-nickel (II)

N-NH<sub>4</sub> : Azote ammoniacal

N-NO<sub>2</sub> : Azote nitrique

N-NO<sub>2</sub>+NO<sub>3</sub> : Azote combiné du nitrite et du nitrate réduit

N-NO<sub>3</sub> : Azote du nitrate

NH<sub>4</sub><sup>+</sup> : Ammonium

NO<sub>x</sub> : Oxydes d'azote

NO<sub>2</sub><sup>-</sup> : Nitrite

NO<sub>3</sub><sup>-</sup> : Nitrate

P : Phosphore

PVC : Poly (chlorure de vinyle)

Si : Silicium

TDR : Réflectométrie temporel – Time-Domain Reflectometer

THF : Tétrahydrofurane

TiO<sub>x</sub> : Oxyde de titane

TOMAC : Chlorure de trioctylammonium

*À tous ceux qui ont cru en moi et qui m'ont donné la force d'avancer.*

*"If we knew what it was we were doing, it would not be called research, would it?"*

*-Albert Einstein*



# Remerciement

Je tiens d'abord à remercier mon directeur, le professeur Younès Messaddeq. Il m'a non seulement fait confiance en m'acceptant dans son laboratoire, mais il m'a aussi permis de travailler sur ce projet stimulant qui m'a fait repousser mes limites. Il fût un honneur pour moi de faire partie de ce groupe de recherche et de participer à la culture d'excellence que vous entretenez. J'en retire un aujourd'hui une plus grande curiosité scientifique ainsi qu'une grande fierté.

Je tiens ensuite à remercier mon co-directeur, le professeur Mohammed Lamhamedi. Il fût une opportunité incroyable de travailler en collaboration avec la Direction de la Recherche Forestière du ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs sans qui ce projet ne serait pas ce qu'il est aujourd'hui. Merci pour votre présence et votre encadrement sans faille.

Je retirerai de vous deux votre rigueur et votre exactitude scientifique qui je l'espère, me serviront dans mes projets d'avenir.

Je veux ensuite offrir mes sincères remerciements à Jeff Viens qui a joué le rôle de coordonnateur pour ce projet depuis mes débuts dans le groupe de recherche. Je garderai en mémoire tous les conseils et leçons appris lors de nos discussions.

Je continuerai en mentionnant Charles-Olivier Normandeau et Mathilde Loubier avec qui j'ai travaillé sur le projet. Il fût un plaisir immense de vivre notre amitié au travers de cette recherche et de partager nos réflexions dans les défis que nous avons affrontés. Notre collaboration et notre communication est au cœur du succès de cette recherche et je vous en remercie. À ceux-ci s'ajoutent les stagiaires avec qui j'ai eu la chance de travailler : Annie-Kim Landry, Joel Drapeau et Anthony Tremblay. Votre passage au sein de notre équipe nous a fait profiter de votre dynamisme et de vos efforts.

J'aimerais aussi remercier Victor Garnier-Bélangé, Maxime Rioux et Seyed Alireza Ghaffari avec qui j'ai partagé de nombreuses discussions. Sans vous, la spectroscopie d'impédance électrochimique serait encore un grand mystère.

Finalement, mes remerciements vont à ma famille, à mes amis et à ma conjointe Ariel pour m'avoir encouragé tout au long de ce périple et de m'avoir donné la force de traverser les obstacles. Plus spécialement, je veux remercier mes parents, Lyne et Gérald, pour m'avoir soutenu au travers de mon parcours et de m'avoir appris à foncer face aux défis et de donner le meilleur de moi-même.



## Avant-Propos

La présentation des résultats du présent mémoire inclura deux articles auxquels j'ai eu une contribution significative par la participation à l'élaboration, le développement et l'adaptation des méthodes, la prise de mesures avec les senseurs, l'analyse et l'interprétation des résultats, ainsi qu'à la rédaction des deux manuscrits. Dans le chapitre 5, il est question d'un premier article publié en anglais dans la revue scientifique de calibre international *Sensors* le 21 juillet 2015 pour une édition spéciale axée sur les villes intelligentes. J'y partage le statut de co-auteur avec Seyed Alireza Ghaffari avec qui j'ai partagé la rédaction et la révision de nos parties respectives du manuscrit, la chimie et le senseur pour moi, la modélisation et l'ingénierie pour lui. Cette collaboration a été étroitement encadrée par Jeff Viens Ph.D. pour en assurer la cohésion en nous laissant un rôle d'avant plan dans l'écriture de l'article. Dans cet article, nous présentons pour la première fois, à notre connaissance, un nouveau senseur électrochimique pour le dosage des nitrates au travers de son étude par la spectroscopie d'impédance électrochimique. Les mesures sont faites par des appareils conventionnels et par un nouvel appareil développé dans le groupe de recherche. Le chapitre 6 présentera le deuxième manuscrit qui a été soumis en langue anglaise le 19 avril 2016 à la revue scientifique *Sensors* pour une édition spéciale axée sur l'agriculture qui paraîtra en mai 2016. Pour celui-ci, j'ai fait l'ensemble de la rédaction avec les ajouts techniques directement liés à la foresterie de Prof. Mohammed Lamhamedi. Dans cet article, nous présentons la mise en application pratique du senseur électrochimique pour le dosage des nitrates en conditions de laboratoire et de pépinière forestière. Dans cette application, le senseur sera utilisé au travers de méthodes certifiées pour le dosage des nitrates en substrat de croissance et a été exposé aux variables environnementales directement en pépinière forestière.





# Introduction

Avec l'augmentation de la population mondiale, les besoins en produits agricoles et alimentaires ne cessent de croître. Pour satisfaire cette demande, le recours aux fertilisants minéraux et organiques figure parmi les techniques culturales les plus utilisées pour augmenter les rendements des différentes cultures. En effet, par exemple, à l'échelle mondiale la consommation de fertilisants en 2010 s'élève à 98,20 tonnes de nutriment par 1000 Ha selon l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (Food and Agriculture Organisation of the United Nations - FAO) [1]. Les études prévisionnelles estiment que cette consommation mondiale de fertilisants minéraux fabriqués à l'échelle mondiale devrait dépasser, en volume, 200,5 millions de tonnes en 2018, soit 25% de plus qu'en 2015 [2]. L'utilisation excessive et non raisonnée de fertilisants minéraux et organiques engendrent des impacts négatifs sur l'environnement (pollution des nappes phréatiques, des rivières et des lacs, eutrophisation, gaz à effets de serre, etc.) et la santé des sols (salinité, perte de productivité, etc.). Comme cette utilisation est au cœur des problématiques principales du domaine, soit agronomique, économique et environnementale, la connaissance de la variabilité spatio-temporelle de la fertilité des sols en éléments minéraux (N, P, K, etc.) amène un besoin important pour le développement de nouvelles innovations technologique rapides d'analyses *in situ* [3].

Parmi les fertilisants les plus utilisés, on retrouve ceux à base de différentes formes d'azote (urée, nitrate d'ammonium, etc.) qui constituent le facteur déterminant du rendement des cultures. En effet, en 2010, l'épandage des engrais azotés a atteint une moyenne annuelle de 68,71 tonnes par Ha [1]. L'utilisation mondiale de l'azote devrait augmenter de 1,4% par an jusqu'en 2018 [2]. Lors des transformations des produits azotés (fertilisants, fumure organique, etc.), une partie de l'azote est perdue par voie gazeuse selon les principaux processus, notamment la volatilisation, la nitrification et la dénitrification. Ceci a pour résultat le dégagement de  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{N}_2\text{O}$  et  $\text{N}_2$  dans l'atmosphère. Les deux autres formes de l'azote (nitrates  $\text{NO}_3^-$  et ammonium  $\text{NH}_4^+$ ) sont absorbées par les plantes. Cependant, l'ion  $\text{NO}_3^-$ , dû à sa grande mobilité à l'échelle environnementale, figure parmi les anions les plus lessivés; ce qui contribue à la contamination des nappes phréatiques et l'eutrophisation des cours d'eau [4]. Ainsi, par exemple, la réglementation environnementale dans plusieurs pays exige que la concentration en azote ne doive pas dépasser 10 mg ( $\text{N-NO}_3 + \text{N-NO}_2$ )  $\text{L}^{-1}$  dans les eaux souterraines [5,6]. Par un meilleur contrôle de l'ajout des fertilisants selon l'évolution de la fertilité des sols et des besoins spécifiques des stades de croissance des cultures, il serait donc possible d'optimiser les rendements tout en respectant l'environnement et les principes du développement durable. Un tel suivi instantané *in situ* est impossible avec les méthodes d'analyses conventionnelles qui demandent un échantillonnage et des mesures de laboratoire telles la colorimétrie ou l'analyse atomique, ou encore par des

mesures non sélectives comme les mesures de conductivité électrique [7], la réflectométrie temporelle (TDR) [8, 9, 10] ou la réflectométrie fréquentielle (FDR) [11].

Plusieurs technologies visant le dosage *in situ* des nitrates avec précision ont été développées au cours des dernières années. Les plus importantes d'entre elles sont les électrodes potentiométriques sélectives aux ions [12], les transistors à effet de champs sélectifs aux ions [13], les appareils coulométriques [14] et les optodes [15]. Ces appareils sont toutefois soumis à des contraintes incontournables limitant une application nécessitant un vaste déploiement comme c'est le cas pour le suivi de fertilisation. Cette limite étant généralement liée aux coûts des composantes primaires des appareils et de leur fragilité. À cet effet, il s'avère nécessaire de développer une nouvelle technologie peu coûteuse permettant de faire le dosage *in situ* des nitrates de façon instantanée.

Dernièrement, la spectroscopie d'impédance électrochimique a fait une percée dans plusieurs domaines d'analyses dont le suivi de corrosion [16], l'analyse de pile à combustible [17], la biodétection [18], le dosage des éléments minéraux dans les plantes [19, 20], la détection du cancer du sein [21] et le dosage du glucose [22]. Le potentiel de cette technique pour une mesure rapide, continue, réversible, sensible, sélective, robuste et peu demandant en énergie constitue une avenue fort intéressante pour le développement d'une nouvelle technologie pour le dosage des nitrates en matière de suivi de la fertilisation et d'optimisation de la fertilisé des sols et des substrats de croissance.

En s'inspirant de cette technique et des progrès reliés aux électrodes potentiométriques sélectives aux ions, un nouveau type de capteur électrochimique sera développé dans le but de faire le dosage de précision des nitrates en pépinière forestière. Ce milieu d'application a été choisi pour sa possibilité à être à la fois très représentatif d'un sol tout en offrant une meilleure connaissance et un meilleur contrôle de son contenu chimique. L'efficacité de ce nouveau capteur sera testée en comparaison avec une méthode de dosage certifiée des nitrates 17025 par l'organisme international de normalisation (ISO/CEI) du laboratoire de chimie organique et inorganique (LCOI) de la direction de la recherche forestière au ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs (MFFP). À notre connaissance, il s'agit de la première fois que l'on développe un capteur électrochimique basé sur le principe de l'impédance électrochimique pour doser instantanément les nitrates *in situ* dans des solutions et dans un substrat organique aussi bien qu'en pépinière forestière.

Pour détailler le développement d'un premier prototype de capteur électrochimique, ce mémoire sera constitué de différents chapitres. Le premier chapitre couvrira la problématique de manière détaillée, en passant par le besoin d'analyse *in situ*, les besoins spécifiques des pépinières forestières ainsi que l'impact du nitrate sur l'environnement. Pour terminer, ce chapitre fera une revue des techniques constituant l'état de l'art actuel des mesures ioniques *in situ*. Le chapitre deux s'attardera à l'ensemble des notions théoriques qu'il est

nécessaire d'avoir avant de s'attaquer au développement d'un nouveau senseur. Cette revue de littérature portera sur les propriétés chimiques du nitrate, les substrats de croissance utilisés en pépinière, le fonctionnement d'une membrane sélective aux ions et finalement, les principes de la spectroscopie d'impédance électrochimique. Le troisième chapitre pour sa part, définira par quelles méthodes ces principes seront utilisés pour développer et étudier le nouveau prototype de senseur électrochimique. Les méthodes seront séparées comme suit : la préparation des senseurs, les mesures d'impédance en solutions, les mesures d'impédance en substrat de croissance et les tests effectués directement en pépinière forestière.

Les résultats obtenus par ces méthodes seront séparés en trois chapitres. Le chapitre quatre portera sur les mesures d'impédance effectuées en solution au laboratoire, incluant la calibration des senseurs et l'évaluation de la sélectivité. Les chapitres cinq et six présenteront chacun un article publié dans une revue scientifique de calibre international évaluée par des pairs qui porte respectivement sur la spectroscopie d'impédance en solution et sur les mesures d'impédance effectués en substrat de croissance au laboratoire et en pépinière forestière. À la suite de ces sections, le mémoire se terminera par un résumé des conclusions et un aperçu sur les limites de l'étude et des travaux futurs à faire.

## **Objectifs du projet**

Le présent mémoire s'intègre dans le cadre d'un projet de recherche qui a pour objectif général de développer un senseur électrochimique intégré pour le dosage de précision des ions nitrate, phosphate et potassium (NPK). Ainsi, les objectifs spécifiques assignés à ce mémoire de recherche consistent à :

- i. Effectuer une revue de littérature pour définir les conditions d'utilisation de l'analyse ionique *in situ* et détermination d'un domaine d'utilisation optimale pour le développement et l'étude des senseurs électrochimiques.
- ii. Effectuer une revue de littérature des notions théoriques importantes en matière de senseurs sélectifs aux ions, incluant l'état de l'art de ceux-ci, de l'ion d'intérêt, le nitrate, des substrats de croissance et de la spectroscopie d'impédance électrochimique.
- iii. Développer un premier prototype de senseur électrochimique pour les nitrates en s'inspirant des travaux réalisés précédemment dans le groupe de recherche sur le développement d'un senseur sélectif aux phosphates [23]. Les composantes du senseur doivent être bien définies et optimisées pour être intégrées dans un senseur multi-ionique abordable et idéalement compatible avec des technologies de production industrielle conventionnelle, notamment les plateformes microélectroniques (complementary metal oxide semi-conductor - CMOS).

- iv. Évaluer l'efficacité du senseur en solution dans des conditions de laboratoire. L'efficacité sera déterminée par la réponse du senseur en solution pure et par la sélectivité face à des ions compétitifs.
- v. Déterminer le circuit équivalent du senseur par l'étude du senseur par spectroscopie d'impédance électrochimique.
- vi. Comparer l'efficacité du senseur en substrat de croissance en suivant le protocole de traitement d'échantillon du LCOI avec les mesures de la méthode certifiée ISO/CEI 17025 du même laboratoire. Différentes concentrations en nitrates seront obtenues par l'ajout de solutions ou par l'utilisation de différents échantillons prélevés en pépinière forestière à différentes dates tout au long de la période de fertilisation.

# Chapitre 1 : Description de la problématique

Ce premier chapitre s'adresse directement à l'objectif i) en décrivant en détail le contexte dans lequel sont faits les travaux décrits dans ce mémoire. Après avoir détaillé le besoin de nouvelles analyses *in situ*, il sera question d'expliquer le cheminement ayant mené à la sélection de l'analyse du nitrate en pépinière forestière comme domaine d'application pour les nouveaux senseurs électrochimiques. Le tout sera complété par un survol de l'état de l'art des techniques d'analyse ionique propices au dosage *in situ* du nitrate en pépinière forestière.

## 1.1 Analyse *in situ*

Les analyses chimiques sont un outil indispensable de caractérisation dans une grande variété de domaines. Son importance est non seulement irréfutable en recherche, mais est aussi essentiel en production pour assurer et contrôler la qualité des procédés et des produits. Parmi la vaste panoplie d'analyses effectuées sur une base régulière, cette section portera son attention sur l'analyse ionique qui joue un rôle majeur dans plusieurs domaines.

Les ions sont des atomes ou des molécules possédant une charge électrique nette qui leur donne une grande solubilité en milieu polaire : l'eau par exemple. Ces propriétés intrinsèques leur donnent des rôles clés dans plusieurs mécanismes naturels. Pour pouvoir les caractériser, deux informations sont bien importantes. Dans un premier temps il faut être capable de reconnaître la nature des ions. Ceci peut être fait en utilisant la différence de certaines propriétés telle la taille hygroscopique ou désolvatée et la charge de ceux-ci. Il est aussi possible d'utiliser d'autres propriétés comme sa capacité calorifique ou encore son absorption ou son émission optique. D'autres méthodes vont utiliser la réactivité d'un ion face à certaines familles de réaction comme l'oxydoréduction, la complexométrie ou simplement sa capacité à se lier à certains composés. Ensuite, il faut être capable de déterminer leur concentration, ce qui peut être fait par la quantification d'un phénomène lié à une propriété de l'ion d'intérêt [24, 25].

Présentement, la majorité de ces analyses sont effectuées dans des laboratoires spécialisés. Pour ce faire, la première étape est celle de l'échantillonnage. En soi, ceci peut représenter un défi lorsqu'il est question d'assurer que les échantillons soient représentatifs d'un grand lot [26]. Pour plusieurs des analyses conventionnelles de la précédente énumération, les échantillons devront subir un traitement avant d'être analysés. Ces traitements peuvent être de complexités variées, mais dans l'ensemble, ils ont pour objectif d'extraire les ions d'intérêts et d'éliminer les sources d'interférence de l'analyte. Ces processus peuvent être par exemple la filtration, la centrifugation ou encore la digestion de l'échantillon. Une fois que l'analyte est préparé, il pourra être analysé par un des procédés décrits précédemment.

L'ensemble de ces mesures est coûteux en temps et en argent, ce qui en fait une contrainte majeure dans le suivi serré d'un milieu ou d'un procédé. Une solution à cette situation est une méthode d'analyse qui puisse être directement installée au cœur du milieu d'analyse. La démarche permettrait de passer outre les procédures d'échantillonnage et de traitements d'échantillons. Pour que celle-ci soit efficace, il faut que la perte de précision de l'analyse, limitée par la complexité du milieu, soit rentabilisée. Cette rentabilité est accomplie par le faible coût de la technologie utilisée, par la durée de vie et par la stabilité de celle-ci aux conditions du milieu qui sont généralement plus difficiles que celle d'un laboratoire. Dans un cas idéal, son utilisation doit d'être assez simple pour permettre son utilisation par le personnel déjà en fonction dans le milieu [27].

Les domaines démontrant ce besoin sont aussi vastes que les différents procédés d'analyses ioniques. Ceux-ci peuvent autant faire appel à des mesures en milieu biologique, qu'environnementale, qu'industrielle. Pour ne citer que quelques exemples contrastants, on peut mentionner : l'intérêt d'un capteur à réponse rapide et biocompatible pour le calcium dans la communication des cellules nerveuses; le suivi de la silice active qui est présente en très faible concentration dans le milieu océanographique; le suivi de la concentration en sulfate dans les conditions extrêmement abrasives de l'industrie minière de l'apatite pour la production d'acide phosphorique. Chacune de ces situations a été apportée au groupe de recherche depuis le début du projet. Parmi l'ensemble de ces domaines, il y en est un qui suscite un grand intérêt à l'échelle internationale, soit la pollution des nappes phréatiques et des cours d'eau par les fertilisants, notamment les nitrates.

## **1.2 Analyses en pépinière forestière**

La fertilisation est utilisée dans plusieurs pratiques visant la production de plants, tels le domaine agricole, la foresterie ou encore l'horticulture. Les nécessités dans ces domaines peuvent être décrites en trois critères. Tout d'abord, il est question de production. En effet, il n'est pas difficile d'imaginer toutes les raisons qui expliquent le désir d'une exploitation plus grande et plus rapide pour subvenir aux différents besoins auxquels s'attaquent les produits du secteur. Ensuite, il est important de comprendre l'importance économique des procédés qui sont ajoutés pour améliorer ce rendement, leur rentabilité faisant bien sûr partie de l'évaluation de leur viabilité. Le troisième critère est l'impact environnemental des pratiques jugées viables selon les deux précédents. La nécessité de cette évaluation est d'autant plus d'actualité alors que la conscience globale de notre influence sur l'environnement croît de jour en jour et que l'industrie applique de plus en plus des principes de développement durable [3].

La fertilisation dans la production de plants est au cœur même de ces problématiques. La consommation croissante de nos sociétés nécessite un apport toujours plus important des industries qui à leur tour tentent de préserver un marché profitable en assurant un large volume en maintenant la meilleure marge de profit. Les

études détaillées de la FAO démontrent des chiffres très élevés de consommation pour l'année 2010 [1] et les prévisions annoncées jusqu'en 2018 montre une tendance de forte augmentation [2]. Le développement d'un procédé d'analyse *in situ* aurait donc un grand apport dans l'optimisation des procédés de productions en minimisant la surutilisation de fertilisants, ce qui minimisera du même coup les conséquences de la production sur l'environnement.

Déjà, plusieurs démarches ont été étudiées pour favoriser une meilleure utilisation des fertilisants dans la production, par exemple par la modélisation météorologique ou l'étude de la variabilité spatiale de l'irrigation. [9, 10, 28, 29, 30, 31]. Parmi tous les ions essentiels à cette production, certains ont une importance majeure. Une grande priorité est donc attribuée aux principaux nutriments limitant la croissance des plantes, soit l'azote (N), le phosphore (P) et le potassium (K) [32]. L'azote est principalement retrouvé sous forme d'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) ou de nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) alors que le phosphore disponible est sous l'une des formes de phosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ). Bien que la nécessité de chacun de ceux-ci soit équivoque, une attention particulière sera portée à l'ion nitrate pour la gravité des conséquences de sa présence sur l'environnement et ses habitants [4, 5, 6].

Bien que ces défis soient communs à l'ensemble des domaines faisant la production de plants, tous ne présentent pas les mêmes réalités. C'est particulièrement le cas lorsqu'il est question de faire le choix d'une planche d'essai pour le développement d'une nouvelle technologie. Des choix possibles, l'exploitation de pépinières forestières est fort intéressante pour de nombreuses raisons. Dans un premier cas, il s'agit de l'une des grandes industries de production de la foresterie. Il s'agit au Québec d'une activité installée à plusieurs endroits dans la province dans des cadres autant privés que publics, fournissant par exemple 130 millions de plants annuellement pour le reboisement [33]. Pour arriver à optimiser les procédés d'appui à la croissance de certaines espèces particulièrement sensibles à leur environnement, plusieurs études ont déjà été faites, fournissant un large éventail de données et de connaissances dans le domaine de production de plants [34].

L'avantage majeur de la production en pépinière en comparaison avec l'agriculture par exemple, vient du contrôle permis par le milieu de développement des plants. L'une des principales raisons de cette différence vient du fait que les plants forestiers sont plantés dans des substrats de croissance contenus dans un système d'empotage composé de cavités munies d'ouvertures. Ces installations font donc de ces milieux de croissance sont finis dans l'espace contrairement aux sols des terres arables utilisés en agriculture [32]. Les détails de ce système seront décrits à la section 2.2 de ce mémoire. Il est toutefois important pour l'instant, de mentionner que celui-ci offre un contrôle sur sa composition et son évolution qui est favorable, voire optimal pour son étude par ces quelques différences.

### 1.3 Nitrates et environnement

Comme mentionné à la section 1.2, le nitrate joue un rôle de premier plan dans la fertilisation autant sur le point de la croissance des plants que sur l'impact de celle-ci sur son milieu. La principale propriété de laquelle découle cette importance est sa grande solubilité qui lui donne une grande mobilité à l'échelle environnementale. Le nitrate peut facilement être absorbé par les racines des plantes qui s'en servent comme source d'azote nécessaire au développement de leur masse. De plus, cette grande solubilité permet à cet ion d'être lessivé et de se retrouver dans les cours d'eau avoisinant les sites de production, incluant la nappe phréatique. Son influence dans la croissance sera donc observée chez les plantes qui occupent les lacs et les rivières. Lorsque la situation n'est pas contrôlée, un phénomène d'eutrophisation, accumulation de nutriment dans un milieu, sera observé par un déséquilibre nuisible pour les espèces qui y habitent [4]. De plus, des études ont démontré la toxicité du nitrate, autant sur l'homme que sur la faune aquatique, [35] qui est maintenant réglementé par la politique nationale de l'eau potable du Québec qui demande une concentration d'azote inférieure à 10 mg/kg, soit inférieure à 45mg de  $\text{NO}_3^-$  par kg d'eau [5, 6]. Sur un volet atmosphérique, les fertilisants azotés sont réputés pour subir d'importantes pertes par volatilisation sous forme de ( $\text{NO}_x$ ), un contaminant important de l'atmosphère à l'origine de pluies acides et de smog [4]. Par exemple, la perte par volatilisation de l'urée est de 11%. Les fertilisants azotés n'échappent pas aux tendances des fertilisants dans leur ensemble, alors que les prévisions de la FAO annoncent une augmentation de 1,4% annuel d'azote à l'échelle mondiale d'ici 2018 [2].

### 1.4 État de l'art de l'analyse ionique

La section 1.4 servira à définir différentes technologies d'analyses ioniques ayant été reportées dans la littérature au cours des dernières années. Certaines d'entre elles ont même aujourd'hui percé le marché et sont disponibles commercialement. Toutefois, il sera démontré dans ces brèves descriptions les raisons qui empêchent ces différentes techniques d'atteindre les objectifs essentiels à leur application dans le suivi et le dosage *in situ* des éléments minéraux dans le cadre des programmes d'optimisation de la fertilisation.

#### 1.4.1 Senseur potentiométrique

Les électrodes potentiométriques sélectives aux ions (ISE) sont une des technologies servant à l'analyse ionique ayant réussi à percer le marché [36]. L'appareil en faisant le fréquent usage et présent dans de nombreux laboratoires est un pH-mètre. Son fonctionnement s'appuie sur deux principes fondamentaux. Le premier est le potentiel d'activité ionique d'une solution et le deuxième est le potentiel de surface qui découle de l'interaction d'une membrane sélective aux ions avec cette solution [12, 15, 37, 38, 39].

Le potentiel d'activité ionique découle de l'équation de Nernst qui donne la tension d'équilibre d'une électrode selon le potentiel standard ( $E^0$ ) d'un couple redox. Comme le montre l'équation eq.1 résolue à 25 °C pour la

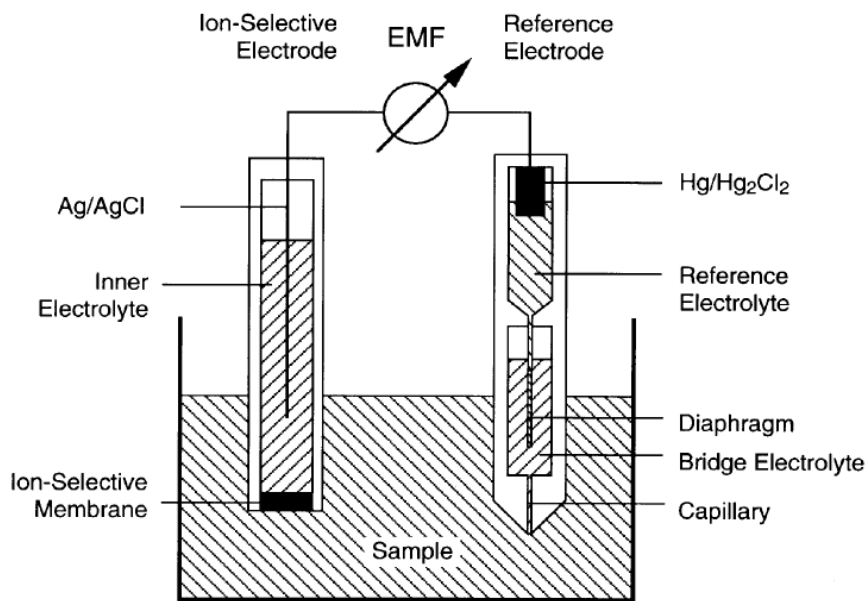


demi-réaction eq.2, la tension  $E$  dépend aussi du nombre d'électrons transférés dans la demi-réaction ( $n$ ), du potentiel d'activité chimique de l'oxydant ( $[ox]$ ), du potentiel d'activité chimique du réducteur ( $[red]$ ) ainsi que de la stœchiométrie de chacune des espèces ( $x$  et  $y$  respectivement) [40].

$$E = E^0 - \frac{0,059}{n} \log \frac{[red]^y}{[ox]^x} \Leftrightarrow E = E^0 + \frac{0,059}{n} \log \frac{[ox]^x}{[red]^y} \quad \text{Eq.1}$$



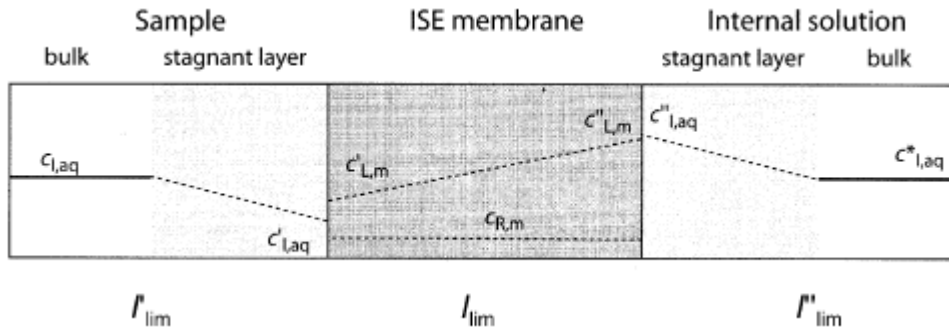
Comme le démontre l'équation, il est important d'avoir un contrôle sur la nature et la concentration des réactifs impliqués dans la réaction étudiée. Afin d'avoir ce contrôle, les ISE utilisent majoritairement une solution interne isolée du milieu d'analyse par la membrane sélective aux ions comme le montre le schéma suivant.



**Figure 1.1** : Schématisation d'une ISE contenant l'échantillon (Sample), la membrane sélective aux ions (Ion-Selective Membrane), l'électrolyte interne (Inner Electrolyte) ainsi que son électrode de mesure d'Ag/AgCl et l'électrode de référence (Reference Electrode) contenant un capillaire (Capillary), un électrolyte de jonction (Bridge Electrolyte), un diaphragme (Diaphragm), un électrolyte de référence (Reference Electrolyte) et son électrode d'Hg/Hg<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> connectée via un voltmètre (EMF). (Sutter et al. 1999 [12])

Ainsi, la figure 1.1 montre l'ensemble des éléments essentiels à la mesure potentiométrique. Cette lecture est faite par la différence de potentiel observée entre l'électrode de travail et l'électrode de référence qui est généralement une électrode de calomel. En plaçant ces deux électrodes dans le même milieu, il est assumé que celles-ci se trouveront à la même température, minimisant l'impact de ce facteur sur la mesure. Baigné par une solution saline appelée électrolyte interne, l'électrode de travail pourrait par exemple être le couple

redox suivant : Ag/AgCl dans une solution aqueuse de KCl. Lorsque ce milieu est exposé au milieu d'analyse à travers la membrane sélective qui sert d'interface, une série de potentiel se mettra en place comme le montre la figure 1.2 ci-dessous.



**Figure 1.2 :** Schématisation du potentiel de surface de la membrane sélective d'une ISE qui trace la concentration de l'ion d'intérêt en solution ( $C_{I,aq}$ ) et à l'interface échantillon (Sample) – membrane (ISE membrane) ( $C'_{I,aq}$ ), la concentration de liant en membrane à la même interface ( $C'_{L,m}$ ) et à l'interface membrane – solution interne (Internal Solution) ( $C''_{L,m}$ ), la concentration de l'ion interne à cette deuxième interface ( $C''_{I,aq}$ ) et à l'intérieur de la solution interne ( $C^*_{I,aq}$ ). Le schéma présente aussi la concentration de sites ioniques fixes dans la membrane ( $C_{R,m}$ ). Tous ces éléments sont évalués selon leur position dans l'espace relative aux interfaces. (Sutter et al. 2004 [41])

Comme on peut le voir, l'interaction favorable entre la membrane sélective et l'ion d'intérêt dans la solution analysée donne place à un potentiel de surface à cette interface. Par la suite, le gradient de concentration décrit par les modèles de formations de bicouches, tel celui de Stern qui joint le modèle d'Helmholtz et de Gouy-Chapman, affectera les milieux ioniques au-delà des interfaces. Il en résultera donc une cascade de potentiel partant de l'interface du milieu d'analyse et de la membrane sélective, continuant à l'interface de la membrane et de la solution interne pour se terminer à l'interface de l'électrode de travail et de la solution interne dont le potentiel sera comparé à l'électrode de référence. La mesure n'étant pas absolue, elle est utilisée par rapport à une droite d'étalonnage servant à calibrer l'appareil [41-44].

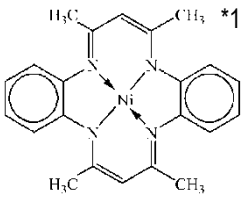
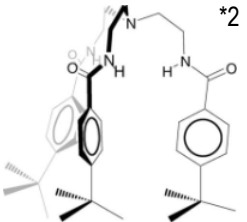
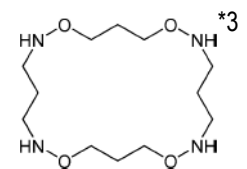
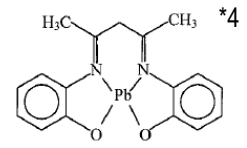
Bien que l'électrode potentiométrique la plus utilisée soit celle pour la mesure du pH, il existe sur le marché [36] et dans la littérature [12] une grande variété dans la diversité des ions analysés. L'élément majeur de changement entre l'une et l'autre de ces électrodes est la composition de la membrane sélective dont l'élément sélectif est un ionophore, une molécule se liant de manière favorable et réversible avec un ion spécifique. Ces ionophores sont originaires de différentes familles de molécules dont la majorité est soit organique pour les cations et métallo-organique pour les anions. Leur utilisation en électrodes potentiométriques permet donc de mesurer la concentration d'un ion en solution sur une certaine plage de concentration. Le tableau A1 trouvé en annexe reprend le contenu de tables qui ont été prises dans un

manuel d'électrochimie [40] et montrent ces plages de concentration, domaines d'utilisation et interférents pour différents analytes.

En portant une attention plus particulière au nitrate, une revue de littérature portée sur les ISE montre un grand éventail de recherche dans le domaine aux environs des années 2000 dans plusieurs groupes de recherches autour de monde [45-53]. Dans l'ensemble, les membranes sélectives utilisées sont à base de polymères dont le polychlorure de vinyle (PVC) et les polyacrylates, ainsi que de molécules métallo-organiques qui jouent le rôle d'ionophore. Parmi les informations tirées dans ces études, il en est une sélection qui a été priorisée pour définir le choix d'une base pour les travaux de recherche décrits dans ce mémoire. Tout d'abord, il y a les plages d'utilisation en concentration de nitrates et de pH qui doivent couvrir celle du milieu d'analyse visé. Ensuite, il y a la force de cette réponse linéaire qui est décrite par sa pente ainsi que le coefficient de sélectivité ( $K_{NO_3^-, A^-}^{Pot}$ ). Ce coefficient montre le ratio de différence de réponse en fonction de la concentration d'un ion (A<sup>-</sup>) par rapport à la concentration de l'ion d'intérêt, dans ce cas-ci le nitrate. Celui-ci peut aussi être présenté en  $pK_{NO_3^-, A^-}^{Pot}$ , obtenu par  $-\log(K)$ , ce qui permet de les comparer d'une manière moins abstraite. Finalement, l'évaluation des senseurs potentiométriques pour le nitrate prendra aussi en compte la durée de vie ainsi que la nature chimique de l'ionophore, plus spécifiquement son coût et sa facilité de synthèse. Le tableau 1.1 présenté à la page suivante montre une sélection des résultats trouvés dans la littérature pour ces senseurs.

Malgré que plusieurs de ces senseurs ont des caractéristiques en faisant de bons candidats pour l'analyse *in situ* des nitrates pour le suivi de fertilisation, les électrodes potentiométriques souffrent de différents problèmes limitant l'atteinte de cet objectif. Dans un premier temps, il y a une question de durée de vie limitée en milieu d'utilisation, qui est beaucoup plus faible que celle en laboratoire décrite dans les résultats présentés. Ceci est principalement dû à la présence d'une solution liquide interne qui est sujette à l'évaporation et aux fuites causées par un bris de l'enceinte. L'une des options alternatives est l'intégration des électrodes potentiométriques dans un format tout solide [54-57], mais plusieurs études ont démontrés une dégradation des électrodes par l'intercalation d'une couche d'eau entre l'électrode métallique et la membrane par la pénétration de celle-ci au travers de la membrane [58]. Bien que le phénomène puisse être réduit par l'ajout d'une couche de polymère semi-conducteur sous la membrane sélective, la dégradation par oxydation de l'électrode de travail s'accroît. Le deuxième point est aussi lié à la nature des électrodes métalliques qui doivent être d'une grande pureté pour permettre le contrôle des couples redox présents dans le système pour une mesure exacte du potentiel. Cette demande de pureté engendre donc des coûts élevés qui limitent grandement la mise en place des électrodes potentiométriques dans un modèle nécessitant un grand nombre de senseurs dans un bût de résolution spatiale et temporelle optimale.

**Tableau 1.1 :** Informations caractéristiques de certaines ISE retrouvées dans la littérature dont l'ionophore, la plage de réponse linéaire, la pente de la réponse, la plage stable de pH, la durée de vie et la sélectivité selon  $\text{Log } K_{\text{NO}_3^-, A^-}^{\text{pot}}$  vis-à-vis les ions (A<sup>-</sup>) NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, Cl<sup>-</sup> et ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>. Le senseur \*1 provient des travaux d'Ardakani et al. 2004 [52], le \*2 d'Ortuno et al. 2004 [49], le \*3 de Thoo et al. 2005 [48] et le \*4 d'Asghari et al. 2003 [50].

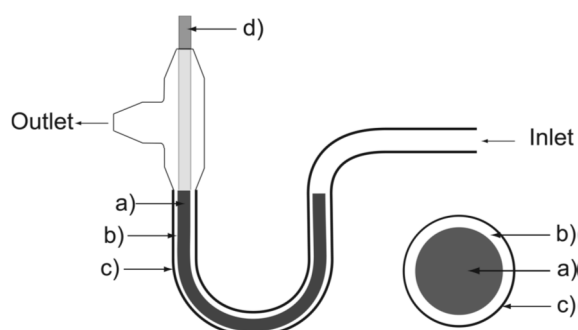
Ionophore	Plage de réponse linéaire (M/L NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	Pente (mV/diz.)	Plage stable selon le pH	Durée de vie (mois)	Sélectivité ( $\text{Log } K_{\text{NO}_3^-, A^-}^{\text{pot}}$ )				
					NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Cl <sup>-</sup>	ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup>
 *1	10 <sup>-5</sup> à 1	-57,8 ± 1,0	2,2 à 9,4	>4	-4,5	-4,5	-4,0	-4,3	-0,8
 *2	10 <sup>-5</sup> à 10 <sup>-1</sup>	-54,7 ± 1,9	2 à 12	>2	-1,6	-2,8	-	-1,9	+1,6
 *3	3,4 x 10 <sup>-6</sup> à 10 <sup>-2</sup>	-54,8 ± 1,2	2,5 à 7,0	12	-1,8	-1,3	-4,5	-2,1	+1,9
 *4	2 x 10 <sup>-5</sup> à 10 <sup>-1</sup>	-58,8	5,3 à 11	>2	-1,8	-	-3,7	-2,0	-0,1

### 1.4.2 Senseur coulométrique

Les senseurs basés sur la coulométrie sont eux aussi décrits dans la littérature [14, 59, 60, 61]. La coulométrie consiste à quantifier le courant utilisé par un système contrôlé et connu pour accomplir une réaction d'oxydo-réduction à un certain potentiel. Lorsque l'espèce activée par ce potentiel électrique est épuisée, le courant cesse de passer dans le circuit et il est ainsi possible d'évaluer le nombre d'électrons injectés ou retirés du système par cette transformation et par équivalence, la quantité de matière transformée.

Cette technique de mesure est toutefois limitée encore une fois par l'importance de la pureté des électrodes qui participeront à la réaction, mais aussi par les nécessités de contrôle du milieu d'analyse. La principale étant celle d'un petit volume maximisant la surface de réaction. L'un des modèles qui se trouve dans la

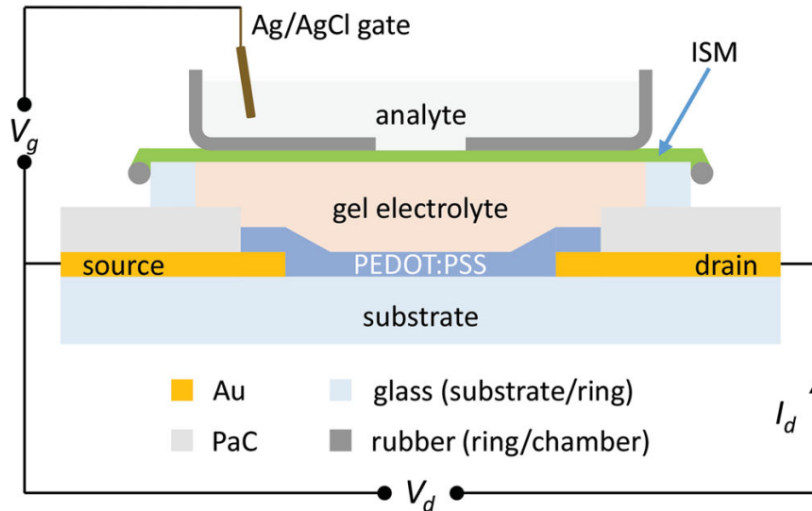
littérature est présenté par Grygolicz-Pawlak et al. 2010 (figure 1.3). Celle-ci montre l'intégration du système de mesure dans un capillaire poreux auquel sont intégrés les agents d'une membrane sélective aux ions et qui dispose en son centre de l'électrode de travail. En couplant ce montage à un système microfluidique, il est possible de gérer le flot de solution dans le système. Il va sans dire qu'à cette échelle, l'échantillon doit préalablement avoir été traité pour empêcher l'obstruction du système, empêchant son utilisation en sol et en substrat de croissance.



**Figure 1.3** : Schématisation d'un système microfluidique pour la mesure coulométrique des ions et la coupe transverse du canal entre l'entrée (Inlet) et la sortie (Outlet). Le système est composé de a) une électrode de travail Ag/AgCl d'un diamètre de 500  $\mu\text{m}$ , b) une couche mince d'échantillon, c) un tube creux de polypropylène d'un diamètre de 600  $\mu\text{m}$  dopé pour servir de membrane sélective aux ions et de d) une connexion pour l'électrode. (Grygolicz-Pawlak et al. 2010 [60])

#### 1.4.3 Transistor à effet de champs sélectif aux ions

Les transistors à effet de champs sélectif aux ions (ISFET) sont une autre démonstration de l'utilisation d'une membrane sélective aux ions dans un autre système électrique. Il s'agit d'une approche visant à fabriquer un transistor à effet de champs dont la grille est remplacée par la membrane qui contrôlera la réponse du système comme le montre le schéma de la figure 1.4. Bien que ce type de transistor offre de grandes opportunités de miniaturisation et de modification, la réponse de ces systèmes est faite pour changer drastiquement entre un circuit ouvert et un circuit fermé. Ce fait limite la plage de concentration dans laquelle ces senseurs donnent une réponse linéaire. Malgré les nombreuses recherches effectuées pour rendre ce type de senseur fonctionnel et efficace, ils n'ont toujours pas réussi à offrir des avantages notables par rapport aux électrodes potentiométriques [13, 62, 63].



**Figure 1.4** : Schématisation d'un ISFET organique qui applique un potentiel  $I_d$  entre la source et le drain en sondant la différence de potentiel  $V_d$  entre ces deux mêmes éléments et la différence de potentiel  $V_g$  entre la source et la grille (gate). Dans ce système déposé sur un substrat (substrate) de verre, l'analyte est directement en contact avec la membrane sélective aux ions (ISM) qui repose sur un électrolyte en gel (gel electrolyte) qui repose à son tour sur une couche de poly(3,4-éthylènedioxythiophène)-poly(styrène sulfonate) (PEDOT:PSS) qui joint la source et le drain. (Sessolo et al. 2014 [63])

#### 1.4.4 Optodes

Les optodes sont un modèle de senseurs ioniques visant l'intégration des mesures colorimétriques en mesures *in situ* par l'utilisation de fibre optique. Encore une fois, les interactions se font par l'entremise d'une membrane sélective à laquelle sont cette fois-ci ajoutés des chromophores, des molécules dont le spectre d'absorption change selon certaines conditions. Les chromophores ioniques conventionnels utilisés en colorimétrie n'ont pas la réversibilité nécessaire pour cette application. Pour contourner ce problème, les prototypes développés jusqu'à maintenant utilisent des chromophores protoniques qui changent en fonction du pH, jumelé à des ionophores qui sont responsables du relargage d'un proton lors de leur liaison avec l'ion d'intérêt. Ce mécanisme laisse donc le senseur susceptible aux variations du pH du milieu d'analyse, limitant drastiquement son utilisation. De plus, bien que le coût de production des fibres optiques soit assez faible pour permettre une large production et de vaste déploiement, le prix de l'appareillage optique permettant leur utilisation à grande échelle est très élevé, principalement dû à la puissance et la qualité de la lampe nécessaire qui s'évalue à plus de plusieurs milliers de dollars [15, 64, 65, 66, 67].

## Chapitre 2 : Cadre théorique

Le chapitre 2 s'adresse directement à l'objectif ii) énoncé en introduction au mémoire. Il sera donc question de documenter les notions théoriques à partir desquelles seront développés le nouveau senseur électrochimique et les méthodes d'analyse qui serviront à le caractériser. Ces notions seront étoffées par une revue de littérature qui se concentrera d'abord sur les propriétés de l'azote et du nitrate, puis sur les propriétés des substrats de croissance dont leurs compositions, leurs textures et chimie. Ensuite, il sera question du senseur lui-même par l'explication détaillée du fonctionnement d'une membrane sélective aux ions suivi d'une étude des principes fondamentaux de l'EIS qui couvrira la définition de ses éléments, les différentes présentations de résultats et l'utilisation de la méthode dans l'établissement d'un circuit électrique équivalent.

### 2.1 Azote et le nitrate

Cette section du mémoire décrit le cycle biologique de l'azote en mettant de l'avant ses sources dominantes dans l'environnement et les différents mécanismes de transformation qui les relient les unes aux autres. Il sera entre autre question d'expliquer les affirmations pointant le nitrate comme étant l'ion d'intérêt pour le suivi de la fertilisation. Dans cette même optique, la revue de littérature portera son attention sur les propriétés de cet ion de manière qualitative et quantitative tout en faisant la comparaison avec d'autres ions compétitifs.

#### 2.1.1 Cycle de l'azote

L'azote est un élément caractéristique et essentiel dans les molécules actives du vivant. Pourtant la source principale disponible dans l'environnement est atmosphérique sous la forme  $N_2$  qui est particulièrement inerte. Elle reste néanmoins plus accessible que les 98% de l'azote de la planète qui sont contenus dans des minéraux et qui du coup sont pratiquement inaccessibles à la biosphère. Ce n'est donc qu'une faible portion de l'azote qui est considérée comme assez réactive pour participer aux échanges qui lient les différents systèmes. Cette faible portion est divisée en plusieurs formes. La première est l'azote inorganique qui est représenté en quasi-totalité par des ions très solubles dans l'eau ( $NH_4^+$ ,  $NO_2^-$  et  $NO_3^-$ ). Il se trouve donc en grande quantité dans l'hydrosphère et une fraction de celui-ci est adsorbée sur les complexes des sols. Le ratio de présence entre les ions listés dépend de la présence d'oxygène. Le nitrate est dominant en milieux oxygènes et l'ammonium est dominant en milieu anoxique. Le nitrite est plutôt un état de transition entre les deux formes de l'azote et est donc observé en faible concentration.

L'autre forme importante de l'azote est organique. Dans un premier temps, il y a celui de la biomasse vivante où il est un constituant essentiel dans les acides aminés qui composent les protéines, les acides nucléiques qui composent les nucléotides et même certaines parois de cellules bactériennes. Ensuite, il y a celui de la biomasse morte qui ne conserve que les formes les plus stables de l'azote organique [34, 68].

Les réservoirs d'azote réactif sont donc les continents et les océans qui sont reliés entre eux par l'écoulement des eaux douces qui draine le premier vers le deuxième. Il y est bien sûr des échanges entre l'azote atmosphérique et ces milieux, mais ceux-ci sont de faibles quantités puisqu'il faut une grande énergie pour activer  $N_2$ . Un procédé industriel bien connu, la réaction d'Haber-Bosch ( $N_2 + 3 H_2 \rightarrow 2 NH_3$ ) vise d'ailleurs cette activation pour la fabrication d'engrais [69]. Pour réussir ce tour de force, la réaction utilise une température de  $450^\circ C$  et une pression de 300 bars. Dans l'environnement, l'activation se fait par la réaction avec l'oxygène en haute atmosphère dans la formation de  $NO_x$ .

À même les réservoirs d'azote réactif, des mécanismes assurent la transformation des différentes formes ioniques entre elles. La nitrification se déroule en milieu aéré où elle accentue l'acidité par deux processus qui sont la nitrification ( $NH_4^+$  vers  $NO_2^-$ ) et la nitratisation ( $NO_2^-$  vers  $NO_3^-$ ). Le nitrate peut ensuite se réduire par dénitrification en milieu pauvre en oxygène jusqu'à atteindre  $N_2$  par les états  $NO_2^-$  et  $N_2O$ . L'autre voie est d'être intégrée par la biomasse par le processus de réduction assimilative. Lorsque cette biomasse se décompose, elle procède à l'ammonification, mécanisme inverse à l'assimilation, qui transforme l'azote en ammonium. Cet état peut aussi être atteint depuis le nitrite en cours de dénitrification par le procédé de nitro-ammonification qui est observé dans les sols anoxiques en permanence. Le dernier mécanisme est l'anammox (oxydation anaérobie de l'ammonium) et il consiste en la réaction entre l'ammonium et le nitrite qui libère l'azote sous sa forme atmosphérique [34, 68].

Malgré la complexité et la diversité de ces transformations, la nature de l'azote dans un substrat de croissance est relativement stable. Puisque le sol est bien aéré, le procédé de nitratisation est assez efficace pour que l'on ne trouve que des traces négligeables de nitrite alors que la majorité est sous la forme de nitrate. Il est aussi possible de trouver de l'ammonium résultant de la décomposition de matière organique. Le suivi de sa présence est important, car son implication dans le processus de nitrification engendre l'acidification du système ( $NH_3 + 2 O_2 \rightarrow NO_3^- + H^+ + H_2O$ ). Toutefois ce problème tend à se gérer par lui-même puisque le rendement de la réaction est très faible en conditions acides. Les deux formes dominantes en substrat sont donc l'ammonium et le nitrate, le second étant d'un intérêt accru par sa grande mobilité à l'échelle environnementale [34, 70].

### 2.1.2 Chimie du nitrate

Comme l'ion nitrate se trouve au cœur de cette étude, il est important de connaître les différentes propriétés intrinsèques de celui-ci pour savoir comment il réagit et comment il se distingue des autres ions. Sa structure planaire porte une charge nette de -1 distribuée au travers de ses différentes formes de résonance montrées dans la figure 2.1.



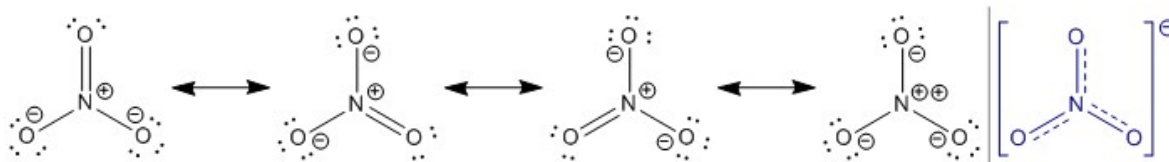


Figure 2.1 : Formes de résonance de l'ion nitrate

Le dernier aspect d'intérêt majeur est l'ensemble des propriétés spécifiques des ions en solutions tel leur rayon hygroscopique, leur solubilité en milieu aqueux ainsi que leur mobilité. L'énergie et l'entropie associées à la solubilité des ions sont importantes afin d'évaluer l'énergie nécessaire pour permettre une interaction favorable à l'interface de la membrane et du milieu d'analyse. La mobilité pour sa part aura un impact sur la diffusion de celui-ci. Ces valeurs sont compilées au tableau 2.1.

**Tableau 2.1** : Informations caractéristiques d'une sélection d'ions dont le rayon, l'énergie libre de Gibbs d'hydratation ( $\Delta G_{\text{hyd}}^{\ominus}$ ), l'enthalpie standard d'hydratation ( $\Delta H_{\text{hyd}}^{\ominus}$ ), l'entropie standard d'hydratation ( $\Delta S_{\text{hyd}}^{\ominus}$ ), le volume molaire partiel standard ( $\bar{V}_{\text{m}}^{\ominus}$ ) [41] et la mobilité relative de l'ion par rapport au potassium (conductivité ionique limite dans l'eau à 298 K =  $7,350 \lambda_{\text{K}}^{\ominus}$  /mS m<sup>2</sup>mol<sup>-1</sup>) [71, 72].

Ions	Rayon pm	$\Delta G_{\text{hyd}}^{\ominus}$ kJ·mol <sup>-1</sup>	$\Delta H_{\text{hyd}}^{\ominus}$ kJ·mol <sup>-1</sup>	$\Delta S_{\text{hyd}}^{\ominus}$ J·mol <sup>-1</sup> ·K <sup>-1</sup>	$\bar{V}_{\text{m}}^{\ominus}$ cm <sup>3</sup> ·mol <sup>-1</sup>	Mobilité relative
H <sup>+</sup>	-	-1055	-1090	-131	-5,5	4,763
Li <sup>+</sup>	69	-475	-530	-161	-6,4	0,526
Na <sup>+</sup>	102	-365	-415	-130	-6,7	0,682
K <sup>+</sup>	138	-295	-330	-93	3,5	1
Rb <sup>+</sup>	149	-275	-305	-84	8,6	1,059
Cs <sup>+</sup>	140	-250	-280	-78	15,8	1,050
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	148	-285	-325	-131	12,4	1
Me <sub>4</sub> N <sup>+</sup>	280	-160	-215	-163	84,1	0,611
Et <sub>4</sub> N <sup>+</sup>	337	-130	-205	-241	143,6	0,444
Mg <sup>2+</sup>	72	-1830	-1945	-350	-32,2	0,361
Ca <sup>2+</sup>	100	-1505	-1600	-271	-28,9	0,4048
Fe <sup>2+</sup>	78	-1840	-1970	-381	-30,2	0,36
Ni <sup>2+</sup>	69	-1980	-2115	-370	-35	0,340
Fe <sup>3+</sup>	65	-4265	-4460	-576	-53	0,313
F <sup>-</sup>	133	-465	-510	-156	4,3	0,753
Cl <sup>-</sup>	181	-340	-365	-94	23,3	1,0388
Br <sup>-</sup>	196	-315	-335	-78	30,2	1,063
I <sup>-</sup>	220	-275	-290	-55	41,7	1,0450
OH <sup>-</sup>	133	-430	-520	-180	-0,2	2,69
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	179	-300	-310	-95	34,5	0,972
ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	250	-205	-245	-76	49,6	0,916

## 2.2 Substrats de croissance en pépinière forestière

Les substrats de croissance utilisés en pépinière forestière peuvent être très différents les uns des autres. Le bût du substrat est de simuler un sol naturel tout en permettant un meilleur contrôle de ce milieu de croissance pour faciliter l'optimisation de la production. Pour réussir à décrire ses caractéristiques, trois ensembles de critères seront définis. Ces critères sont sa composition, sa texture et ses propriétés physico-chimiques.

Toutefois, avant de passer à l'étude de ces caractéristiques, il est important de définir la différence entre un substrat de croissance et un sol. Tout d'abord, un substrat est un sol artificiel qui se différencie par son volume restreint, par sa capacité à maintenir une nappe d'eau permanente au fond de son contenant, par la composition différente et instable des microorganismes qui l'habitent et par son manque de structure au-delà de l'échelle de texture. Ces distinctions font en sorte qu'avec un contrôle minutieux du système, il est possible de profiter de son homogénéité pour connaître de manière précise ses propriétés physicochimiques et en tirer profit. [32]

### 2.2.1 Composition

Un substrat peut être composé de nombreux éléments. Chacun de ceux-ci sera décrit dans cette section en faisant mention de leur apport à l'ensemble du milieu de croissance. Le premier est la tourbe, composant principal des mélanges utilisés dans le domaine. Il s'agit d'une matière riche en contenu organique, mais toutefois considéré comme oligotrophe, ce qui signifie qu'elle est pauvre en nutriments. L'un de ses composants principaux est la sphaigne (*sphagnum*) qui est une mousse bryophyte. Il s'agit aussi du principal agent responsable de la formation de la tourbe puisqu'elle peut croître indéfiniment depuis sa tête, le *capitulum*, pendant que le reste de sa structure se décompose et se transforme en la matière même qui l'habite. Originaire des tourbières, milieu marécageux dont le sol est constitué de tourbe, la sphaigne profite de sa robustesse pour s'alimenter du peu de nutriments disponibles et profiter du régime hydrique positif, conditions où l'arrivée d'eau d'un milieu est supérieure aux pertes et qui lui permettent d'alimenter ce cycle continu de croissance et de décomposition. Ce mécanisme est au cœur même de la production de la tourbe, une industrie importante qui alimente entre autres les pépinières. [32, 34, 73]

À cette composante organique s'ajoutent aussi tous les organismes et micro-organismes qui y vivent et qui ont chacun un rôle actif dans sa formation, mais aussi dans le maintien de ses propriétés. C'est d'ailleurs à cause de leur présence que le substrat doit être pasteurisé ou encore passivé chimiquement. Ce processus est essentiel à la stabilisation du milieu de croissance avant son utilisation en pépinière. [32, 74]

La tourbe n'est toutefois pas seulement composée de matière organique. Plusieurs constituants minéraux font partie intégrante de sa structure en différentes proportions, principalement selon l'origine de la tourbe dans la

tourbière. Ces éléments représentent généralement entre 5 et 20% de sa masse sèche. Ceux-ci sont la silice  $\text{SiO}_2$  qui domine (10 à 45% des minéraux totaux), puis les oxydes de calcium (2 à 45%), le magnésium (1 à 20%), l'aluminium (1 à 11%) et le fer (1,5 à 55%) [34]. Des études plus restreintes ont aussi été faites sur les différentes tourbes obtenues au Québec et les résultats sont compilés depuis les régions d'origine de chaque production [75].

L'autre agent principalement utilisé dans la composition d'un substrat de croissance pour la production d'arbre en pépinière forestière est la vermiculite. Cet élément inorganique est principalement composé des minéraux suivants : Al, Fe, Mg et Si. Ceux-ci s'assemblent et forment de minces couches parallèles. Sa structure originale est obtenue de l'industrie minière et est ensuite chauffée jusqu'à une température de  $1000^\circ\text{C}$ . Ce processus fait croître de 15 à 20 fois le volume de ses particules qui réorganise les couches de sa structure tel un accordéon. Cette nouvelle forme donne à ce composé inorganique plusieurs propriétés intéressantes qui sont généralement attribuées à ses homologues organiques [32].

Un autre élément est fréquemment utilisé dans les substrats de croissance. Il s'agit de la perlite, un autre composant inorganique d'origine volcanique de la famille des aluminosilicates. Celui-ci est miné et traité thermiquement par un chauffage à  $1000^\circ\text{C}$ . Suite à cette étape, la perlite devient complètement stérile et est chimiquement inerte et hydrophobe. Son apport est toutefois important dans la définition de la texture du substrat, raison de son utilisation [32].

Outre ces composants utilisés sur une base régulière, plusieurs ajouts beaucoup moins fréquents peuvent être faits au substrat de croissance. Parmi ceux-ci paraissent des copeaux d'écorces et de bois, du bran de scie ou encore du sable. Chacun de ces éléments aura une chimie similaire à ses homologues organiques ou inorganiques, mais jouera un rôle plus important encore dans la texture du milieu en influençant sa porosité. Leur ajout volontaire joue toutefois un faible rôle dans l'industrie des pépinières forestières.

Bien qu'ils ne seront pas détaillés dans ce rapport, il est important de savoir qu'à l'ensemble de ces composantes sont ajoutés différents agents chimiques de fertilisation et de protection. Certains de ces agents sont ajoutés lors du mélange et de la préparation du substrat d'empotage alors que d'autres sont ajoutés ponctuellement durant la croissance des plants [32].

### 2.2.2 Texture

La texture d'un substrat de croissance est une caractéristique majeure définissant ses propriétés. Celle-ci va non seulement guider l'expansion du système racinaire, mais va aussi définir l'aération du milieu. Ces deux mécanismes sont en fait définis par la porosité du substrat. Les pores sont séparés en trois catégories : les micropores ( $<0,2 \mu\text{m}$ ), les macropores ( $>50 \mu\text{m}$ ) et les mésopores qui se trouvent entre ces deux catégories

ont des comportements joignant ces deux sortes de pores. Bien que la porosité globale d'un système soit généralement stable, le ratio entre ces deux espèces est défini par beaucoup de variables instables. Ce ratio est très important puisque chacune de ses parties apporte des caractéristiques essentielles à la bonne croissance d'un plant.

Les micropores jouent un rôle essentiel dans le maintien de l'eau dans le système. En effet, ces pores de tailles plus petites se remplissent d'eau et maintiennent cet état suite au drainage provoqué par l'écoulement. Cette phase aqueuse est essentielle pour l'extraction et l'échange des ions nécessaires aux plants. Les macropores eux ont la charge d'assurer l'aération du substrat en étant d'une taille suffisante pour permettre à l'eau d'en sortir par écoulement naturel.

L'un des facteurs dominants de cette porosité est la nature des composants du substrat qui influence sa texture par leur forme et leur taille. La tourbe qui est l'élément majoritaire du substrat de croissance le plus populaire dans le domaine peut varier grandement selon son origine. Étant le constituant principal, sa texture servira en fait de base qui sera modifiée par l'ajout des autres jusqu'à l'obtention d'une texture favorable à la croissance de l'espèce plantée dans le substrat. La perlite par exemple servira à la formation de macropore par la forme angulaire et la grande taille de ses particules. À l'opposé, le sable va être utilisé pour remplir ces macropores pour les transformer en de nombreux micropores. La vermiculite, par son organisation développée suite à son traitement thermique, apporte des micropores dans le milieu [32, 34].

La composition n'est toutefois pas le seul élément définissant la texture d'un substrat. L'évolution dans le temps de ses composants, surtout ceux d'origine organique au travers des cycles de sécheresse et de réhydratation, facilite la transformation des particules en de plus petites particules qui changent la porosité du milieu. La décomposition de certains composés va aussi provoquer différents changements menant à la séparation des particules ou encore à l'agglomération de certaines. Pour améliorer le maintien de ces propriétés texturales, différents agents peuvent être ajoutés au milieu tel des surfactants ou encore des absorbants (par exemple des polymères réticulés) [76].

### 2.2.3 Propriétés physico-chimiques

En plus des variabilités existantes en composition et en texture pour les substrats, il existe des variables supplémentaires qui peuvent changer pour un même mélange de substrat. L'une de celle ayant un impact de taille est le pH, facteur essentiel à l'absorption des éléments minéraux et à la croissance des plants. Dans la composition mentionnée comme étant majoritairement utilisée en pépinière forestière, le pH est entre 3,5 et 4 qui sont les valeurs associées à la tourbe. La vermiculite seule a un pH de 6,0 à 7,6 et la perlite peut être légèrement plus alcaline en montant jusqu'à 8,0 [32].

Un autre facteur important dans la détermination des propriétés d'un substrat est sa teneur en eau. Tel que mentionné précédemment, l'eau d'un substrat en pot se trouve principalement à deux endroits, soit dans les micropores et dans la nappe d'eau perchée vers le fond de chaque cavité du conteneur. La teneur en eau du substrat est fortement influencée par la porosité, qui est gouvernée par les particules du substrat. La présence d'eau dans les micropores est relativement importante, pouvant représenter jusqu'à environ la moitié de la masse d'une tourbe séchée par évaporation à la température ambiante [32]. En plus d'assurer le rôle de solvant pour les ions dans la rhizosphère, portion du substrat entourant les racines où se déroule l'assimilation, l'eau est au cœur d'une autre propriété physicochimique importante pour ce sol artificiel : la température. En effet, la grande capacité calorifique de cette substance permet d'emmagasiner beaucoup d'énergie et d'ainsi stabiliser les écarts de température de l'environnement. Sa forte capacité d'isolation thermique est évaluée à  $-40\text{ °C}/5\text{ cm}$  [34].

Le pouvoir d'échange d'un substrat décrit les deux mécanismes indispensables qui se produisent entre les particules du substrat et la phase aqueuse. Ils sont l'absorption des ions ajoutés au milieu et le relargage de ces ions. La première source qui sera discutée est celle qui vient directement de l'extraction de la composition chimique des particules. Un bon exemple de ce processus est la lente dégradation de certains composants minéraux qui libèrent des métaux dans la phase aqueuse du milieu. Une dégradation similaire est observée lors de la décomposition des composants organiques. Toutefois certains des produits de cette décomposition quittent rapidement le système sous forme gazeuse, le  $\text{CO}_2$  en étant un bon exemple.

La capacité d'échange d'un substrat vient majoritairement d'un tout autre mécanisme qui est associé à des phénomènes de chimie de surface. Les particules du substrat ont des surfaces chargées négativement, principalement à cause des oxydes et autres fonctionnalités chimiques qui les composent. Pour stabiliser ces charges, les particules s'entourent de différents cations solubilisés dans la phase aqueuse qui les enrobe. Ces cations étant solubles possèdent une certaine labilité et c'est ce mécanisme qui est la source de tout leur intérêt.

La définition de cette propriété est la capacité d'échange cationique (C.E.C.) dont les unités sont en milliéquivalents par kg. Ceci sert à représenter de manière quantitative la quantité en nombre de cations disponibles pour participer à différents échanges. Un de ces ions ayant un impact majeur sur le substrat est l'ion d'hydrogène  $\text{H}^+$ . Sa présence à la surface des particules et sa labilité lui permettent de se solubiliser dans la phase aqueuse lorsqu'un autre cation prend sa place. À ce moment il retourne dans l'eau, augmentant ainsi sa concentration et donc, rendant le milieu plus acide (baisse du pH). Ce phénomène amène le principe du double pH d'un sol. Le premier, appelé pH aqueux ou encore  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ , est déterminé par le pH mesuré lors de l'humidification d'un substrat avec de l'eau pure. Pour le deuxième, un sel est ajouté en grande quantité dans

le milieu, par exemple le  $\text{CaCl}_2$ , permettant les échanges cationiques nécessaires au relargage des protons liés de manière ionique à la surface des particules. La mesure obtenue dans cet exemple est le  $\text{pH}_{\text{CaCl}_2}$  et est toujours plus bas que le  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$ , avec des valeurs respectives d'environ 3 et 4 [34, 77].

Bien que le pouvoir d'échange des cations soit remarquable, il ne s'agit pas des seuls ions capables de participer aux échanges. Les anions aussi peuvent participer aux mécanismes de libérations depuis la composition chimique même des particules, mais aussi aux échanges dus aux charges de surface. Il est néanmoins important de savoir que l'apport de ces processus est beaucoup moindre. Par exemple, l'échange de surface du phosphate n'équivaut qu'à 1% des échanges du potassium [34]. Parmi les sources notables de la capacité d'échange anionique (C.E.A.) on peut faire mention de la vermiculite qui en plus d'avoir une C.E.C. particulièrement élevée pour un agent minéral, permet l'adsorption spécifique du phosphate.

En plus d'être un outil essentiel dans la stabilisation des nutriments d'un substrat, la capacité d'échange ionique met aussi en évidence l'importance d'avoir une bonne connaissance et un bon contrôle des éléments qui se trouvent dans le milieu de croissance. Il ne s'agit pas d'ajouter un nutriment lors de la fertilisation et de considérer que cet ajout est entièrement disponible pour son assimilation. La capacité d'échange d'un substrat fait en sorte que chaque ajout influence non seulement le pH du milieu, mais aussi la présence relative de chacun des nutriments qui sont tous interreliés.

Ce n'est toutefois pas tous les ions ajoutés par la fertilisation qui participent aussi activement aux échanges qui leur permettent de se fixer temporairement dans le système. Le meilleur exemple de ce cas est les nitrates qui sont dotés d'une grande solubilité et d'une faible assimilation par le substrat de croissance par la formation de molécules minérales et organiques. Cette situation place généralement cet ion en solution dans la phase aqueuse. Cette incapacité à se fixer dans le milieu rend les nitrates particulièrement sensibles au phénomène de lessivage qui se décrit par la fuite de certains éléments du milieu par écoulement. Encore une fois, cette situation met de l'avant l'importance d'un contrôle et d'une connaissance rigoureuse du substrat pour permettre l'optimisation économique et agronomique des ajouts de nitrate, mais aussi pour limiter l'impact de son utilisation sur l'environnement.

## **2.3 Membrane sélective aux ions**

La membrane sélective aux ions est un élément essentiel pour guider et contrôler les interactions avec le milieu d'analyse en jouant le rôle d'interface. Le même type de membrane sera utilisé pour le développement d'un nouveau senseur électrochimique pour le dosage des nitrates. Ses mécanismes et sa composition seront décrits en deux parties. La première couvrira la matrice et la deuxième parlera des agents actifs qui y sont ajoutés. Dans le cadre des travaux présentés dans ce mémoire, la composition de matrice est celle d'Ardakani

et al. 2004 [52], présenté au tableau 1.1. Ce choix est basé sur la grande sélectivité de cette membrane en électrode potentiométrique ainsi que la facilité d'acquisition de ses différentes composantes, que ce soit par l'achat de produits commerciaux ou encore pour la synthèse de ceux-ci.

### 2.3.1 Matrice : le polymère et le plastifiant

La matrice joue le rôle de support dans la membrane et est la source principale des propriétés intrinsèques de celle-ci. Les premières propriétés associées à cet ensemble de composantes sont la tenue physique et mécanique qui doit être suffisante pour assurer sa résistance aux conditions d'utilisation. Il est possible de trouver dans la littérature, différentes matrices comme les verres fonctionnalisés [53], les supports à base de carbone inorganique [78] ou encore des polymères [46, 57]. Chacune de ces options offre des avantages et des inconvénients qui doivent être évalués selon les besoins de l'application.

En considérant le domaine du suivi de fertilisation *in situ*, le choix s'est tourné vers une membrane à base de polymère. Le polymère qui sera utilisé doit avoir différentes propriétés essentielles pour en faire un bon candidat comme élément de la matrice. Dans un premier temps, il doit être soluble dans un solvant organique volatil qui devra être aussi un bon solvant pour le reste des éléments de la membrane. Dans un deuxième temps, le polymère est responsable des propriétés mécaniques et il doit fournir un milieu hydrophobe offrant une grande mobilité moléculaire.

L'aspect hydrophobe est nécessaire pour garder les ions à l'extérieur de la membrane et pour limiter les interactions de surface avec ceux-ci. L'aspect de haute mobilité ionique est en lien avec les agents actifs. Pour avoir cette propriété, il est important que la température de transition vitreuse ( $T_g$ ) du polymère se trouve bien en dessous des températures d'utilisation [79]. C'est pour cette raison que des plastifiants seront ajoutés au polymère. Les plastifiants sont de petites molécules organiques non volatiles qui sont miscibles avec les longues chaînes du polymère. Celles-ci jouent un rôle similaire à celui d'un solvant en s'intercalant dans sa structure et offrant un plus grand degré de liberté qui amène la mobilité moléculaire désirée.

Le ratio quantitatif entre les deux éléments de la matrice vise à couvrir la résistance mécanique et la mobilité moléculaire, le tout en gardant la température d'utilisation entre la  $T_g$  et la température de fusion. Le ratio habituellement utilisé dans la littérature mentionne un grand excès de plastifiant. Bien que certaines études aient montré des augmentations de mobilité amenant une amélioration de la vitesse et de l'intensité de la réponse pour un ratio massique quatre pour un, il est commun de faire usage d'un ratio massique de deux pour un.

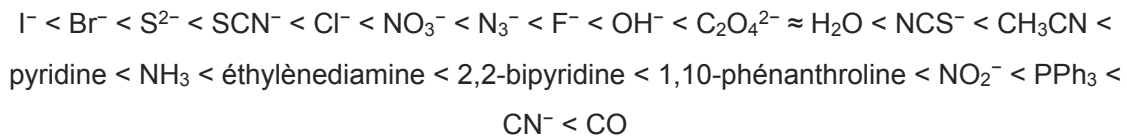
Il y a un autre aspect important associé au plastifiant qui est dépendant de sa nature chimique. Certains plastifiants sont polaires alors que d'autres au contraire sont apolaires. Ceci influencera non seulement la

stabilité des ions dans la membrane, mais aussi la stabilité de certaines conformations des agents actifs qui y seront ajoutés [79, 80].

### 2.3.2 Agents actifs : l'ionophore et le site ionique

Les agents actifs sont les molécules responsables de la stabilisation des ions à l'interface de la matrice. Pour jouer leur rôle, ils doivent stabiliser de manière sélective l'ion d'intérêt de manière réversible, en plus d'être solubles dans le même solvant utilisé pour la matrice et en étant miscible à celle-ci. Pour obtenir une interaction sélective réversible, deux éléments seront ajoutés à la membrane, soit l'ionophore et le site ionique.

Un ionophore est, par définition, une molécule qui se lie réversiblement aux ions. Chaque ionophore se lie de manières différentes selon la nature des ions participant à l'interaction. Comme mentionné précédemment, les ionophores peuvent être organiques ou inorganiques, le deuxième étant le plus souvent utilisé pour les anions, dont le nitrate. Généralement, la force de cette interaction pour cette famille varie selon la charge de l'ion et la distribution de celle-ci dans sa structure qui peuvent être comparées entre eux en se fiant à la série spectrochimique des ligands [81].



En plus de ces propriétés chimiques liées à la charge, la structure de l'ionophore peut être telle que par son encombrement, elle renforce la sélectivité au-delà de celle décrite par la série spectrochimique [82].

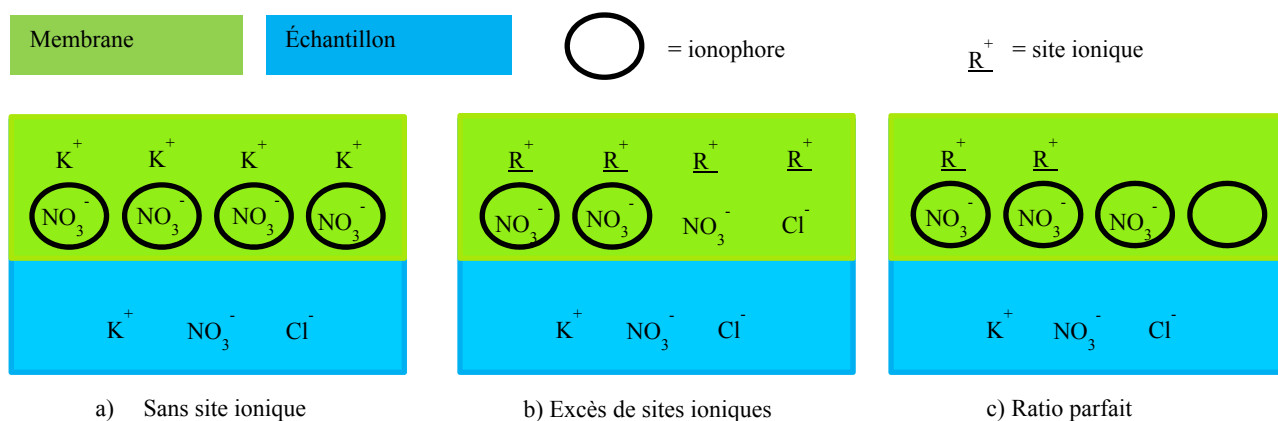
Comme la liaison avec l'ion doit être de faible énergie pour être réversible dans les conditions d'utilisation, l'attraction de l'ionophore seul n'est pas suffisante pour faire une lecture efficace de la concentration de l'ion d'intérêt dans des concentrations du domaine d'utilisation, un autre agent doit être ajouté à la membrane. Cet agent est appelé le site ionique. Il s'agit en fait d'un sel hydrophobe dont la forte attraction n'est sélective qu'au type de charge, positive ou négative, et est réversible dû à sa liaison de nature ionique. Pour contrôler quelle charge restera dans la membrane, la partie de la molécule ayant la charge de nature opposée à celle de l'ion d'intérêt doit être encombrée par des chaînes organiques alors que l'autre partie est un ion très soluble [46].

Dans le cas des membranes sélectives aux anions, les sites ioniques utilisés sont généralement des amines quaternaires. Comme pour les ionophores, l'architecture de la molécule peut offrir une certaine sélectivité liée à la structure basée sur l'encombrement stérique des chaînes alkyles. Par exemple, de nombreuses chaînes



volumineuses limitent la proximité de plus d'un site aux environs de l'ion, favorisant l'attraction d'anions monovalents. Au contraire, une amine quaternaire asymétrique ayant un côté beaucoup plus encombré que l'autre favorise l'interaction avec des anions divalents [52, 83].

Le ratio molaire entre les deux types d'agents actifs est aussi très important pour obtenir un maximum des propriétés attendues. Alors que l'usage seul d'un ionophore est trop faible pour désolvater l'ion d'intérêt, il n'empêche pas la contribution du contre-ion (Figure 2.2.a), l'usage dominant de sites ioniques n'offre pas la sélectivité nécessaire pour un bon senseur (Figure 2.2.b). C'est pourquoi un excès d'ionophore est utilisé afin d'utiliser les sites ioniques comme moteur principal d'attraction de l'ion d'intérêt tout en conservant une quantité d'ionophores disponible pour maintenir la sélectivité, même à autre concentration (Figure 2.2.c). Un ratio molaire fréquemment utilisé dans la littérature est d'environ deux pour un [37, 84].



**Figure 2.2 :** Modélisation des échanges ioniques à l'interface membre-échantillon. Les trois scénarios possibles selon la composition de la membrane son a) sans site ionique, b) avec un excès de site ionique et c) dans un ratio excédentaire de 2 pour 1 pour l'ionophore.

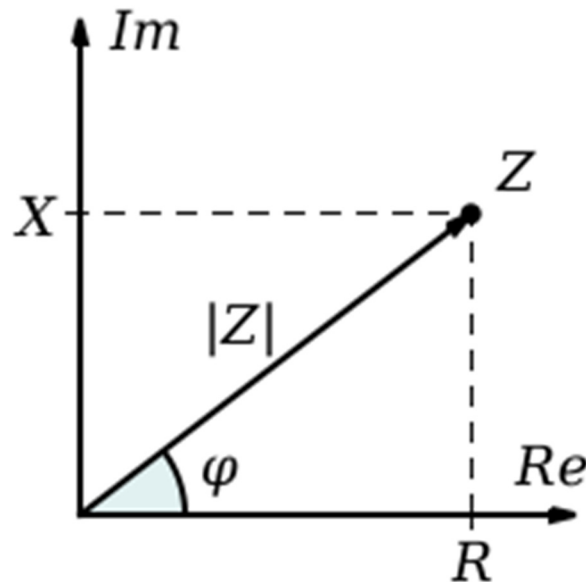
## 2.4 Spectroscopie d'impédance électrochimique

La spectroscopie d'impédance électrochimique est une mesure d'impédance complexe qui permet l'étude des mécanismes de conduction d'un système. Les difficultés associées à son utilisation sont compensées par la grande quantité d'informations qui en sont obtenues et par l'utilisation d'un courant alternatif qui permet plus facilement des mesures non destructives. L'utilisation d'une analyse électrique a été choisie, car elle permet l'utilisation en matrice opaque ou trop complexe optiquement, comme c'est le cas pour un substrat de croissant. Cette tolérance est essentielle à l'application en mesure continue et *in situ* [40, 85, 86, 87, 88].

### 2.4.1 Définitions

L'impédance complexe comprend par définition l'ensemble des phénomènes qui s'opposent à la propagation d'un courant dans un milieu ou encore dans un circuit. Comme son nom l'indique, il s'agit d'une valeur

complexe, ce qui signifie qu'elle est composée de plusieurs éléments qui ne peuvent être décrits en une seule valeur. L'impédance complexe est donc décrite comme un vecteur soit par coordonnée polaire où  $|Z|$  est le module et  $\varphi$  est l'angle de phase, soit par l'addition de valeurs cartésiennes où l'axe des x est l'impédance réelle ( $Z_r$ ) et l'abscisse est l'impédance imaginaire ( $Z_i$ ) comme le montre la figure 2.3.



**Figure 2.3 :** Illustration du vecteur d'impédance complexe  $Z$  tracé dans un graphique plaçant sa partie imaginaire  $Im$  en fonction de sa partie réelle  $Re$ , selon ses coordonnées polaires  $|Z|$  et  $\varphi$ , puis en coordonnées cartésiennes  $R$  et  $X$  [40].

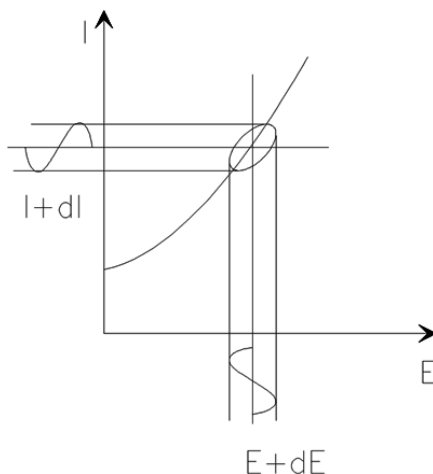
Ce vecteur et ses composantes représentent l'effet de l'impédance sur la réponse d'un courant ( $I$ ) en fonction de l'application d'une différence de potentiel ( $E$ ). En considérant l'utilisation d'un courant alternatif (AC) sinusoïdal d'une fréquence radiale ( $\omega$ ), l'impédance réelle décrit une perte d'amplitude alors que l'impédance imaginaire décrit le déphasage du signal par une avance ou un retard quantifié par l'angle de phase. Les différentes sources d'impédance, qui sont chacune associées à un mécanisme de conduction de la cellule qui définit un circuit électrique équivalent, s'additionnent entre elles de deux différentes manières. Celles-ci s'additionnent en suivant les mêmes équations utilisées pour déterminer la résistance totale d'un circuit en courant continu (DC). Les impédances en série, qui décrivent des mécanismes complémentaires, suivent l'équation 3 tandis que les impédances en parallèle, qui décrivent des mécanismes compétitifs, suivent l'équation 4. L'équation 5 quant à elle présente l'impédance d'une manière analogue à la loi de Ohm où  $t$  est le temps,  $E_t$  est le signal d'excitation et  $I_t$  est le signal de réponse du système.

$$Z = Z_1 + Z_2 + Z_3 \quad \text{Eq.3}$$

$$\frac{1}{z} = \frac{1}{z_1} + \frac{1}{z_2} + \frac{1}{z_3} \quad \text{Eq.4}$$

$$Z = \frac{E_t}{I_t} = \frac{E \sin(\omega t)}{I \sin(\omega t + \varphi)} = |Z| \frac{\sin(\omega t)}{\sin(\omega t + \varphi)} \quad \text{Eq.5}$$

Pour un même système soumis à un courant alternatif sinusoïdal, l'impédance de ce système varie en fonction de deux facteurs. Le premier est l'intensité du courant et le deuxième est sa fréquence. Lors de la sélection de ces facteurs, il est important de respecter différents critères. Tout d'abord, pour optimiser la mesure d'impédance, il faut sélectionner un potentiel où la réponse en courant du système est élevée. Ces réponses fortes sont associées à des mécanismes de conduction qui s'active à ces potentiels. Pour en faire l'analyse, il faut appliquer un courant sinusoïdal à ce potentiel avec une variation assez petite pour que la mesure puisse être linéaire ou considérée comme dans un référentiel pseudolinéaire. La figure 2.4 en fait la démonstration sur une courbe hypothétique du courant en fonction du potentiel [87].



**Figure 2.4 :** Courbe du courant I en fonction du potentiel E illustrant un domaine pseudolinéaire du courant dl face à l'application d'un potentiel alternatif sinusoïdal dE.

Au travers de toutes ces contraintes, une dernière s'ajoute. Dans le cas d'une mesure de spectroscopie d'impédance, le balayage de fréquence peut prendre du temps. Il est très important que l'ensemble du système soit stable durant la mesure, ce qui peut être compromis par différents phénomènes dont : l'oxydation des électrodes, l'adsorption d'impuretés en solution, l'accumulation de produits de réactions, la dégradation d'une membrane ou encore un changement de température. C'est grâce à une mesure stable d'un domaine de réponse linéaire qu'il sera possible de décomposer l'impédance complexe en ses différents éléments.

L'impédance réelle représente les mécanismes dissipatifs d'un système qui résultent en une perte d'énergie vers l'extérieur de celui-ci. Cette dissipation peut se faire par plusieurs procédés, dont la libération de chaleur ou encore de photons. L'impédance couvre trois grandes composantes électriques soit la résistance de

l'électrolyte, la résistance à la polarisation et la résistance de transfert de charge. Dans un circuit électrique, elles sont représentées comme des résistances.

La résistance de l'électrolyte représente la friction du déplacement d'un ion en solution. Celle-ci dépend du contenant par son aire et sa longueur et de la résistivité de la solution. La résistance à la polarisation représente la polarisation des électrodes, dont le métal se charge à l'application d'un potentiel. La résistance de transfert de charge représente le transfert d'un électron dans une réaction d'oxydoréduction. Puisque ces réactions ont une certaine vitesse, elles peuvent limiter la conduction. Cette vitesse varie en fonction de la nature des réactions, de leur concentration des réactifs et des produits, de la température ainsi que le potentiel de la mesure.

L'impédance imaginaire représente les processus accumulatifs d'un système qui résultent en un déphasage de la réponse électrique du circuit. Il existe deux formes d'accumulation d'énergie qui peuvent être observées en spectroscopie d'impédance électrochimique. Premièrement, il y a l'inductance qui conserve l'énergie sous la forme d'un champ magnétique. La réponse d'une inductance est instantanée et s'oppose toujours à la propagation du courant, provoquant ainsi un retard du courant sur le potentiel qui se décrit par une impédance imaginaire positive. Bien que le changement du champ électrique soit toujours lié au changement du champ magnétique, changement qui est continu en courant alternatif, cet effet n'est que notable dans le cas de la présence de boucles. Plus le changement est drastique, plus l'inductance est élevée. Elle augmente donc avec la fréquence. Toutefois, il s'agit d'un processus qui ne sera pas étudié davantage dans ce mémoire puisqu'il est en lien avec le montage et non avec la réaction ou les propriétés chimiques étudiées.

Le deuxième phénomène appartenant à l'impédance imaginaire est la capacitance qui est un mécanisme d'accumulation de charges électriques. L'énergie est stockée sous la forme d'un potentiel électrique présent dans la proximité de charges ponctuelles de même signe en un même endroit. Lorsque les contraintes qui retiennent ces charges tombent, ce potentiel amène une conduction par la répulsion de ces charges entre elles. Ceci donne donc une avance du courant sur le potentiel appliqué qui se décrit par un angle de phase négatif. Le phénomène capacitif apparaît lorsqu'un potentiel est maintenu assez longtemps pour que des charges commencent à s'accumuler, l'effet prenant donc de l'ampleur avec une baisse de la fréquence. La capacitance peut être trouvée sous deux formes : la capacitance double couche et la capacitance diélectrique.

La capacitance double couche décrit l'accumulation d'ions sur la surface d'une interface avec une solution. L'accumulation des ions à une surface varie en fonction du potentiel ionique de la solution ainsi que du potentiel de la surface. La proximité de ces ions de même charge s'organise d'une manière spécifique qui peut être décrite par différents modèles dont celui de Stern. La seconde capacitance est celle d'un diélectrique. Elle décrit l'accumulation de charge provoquée par la polarisation d'un matériau isolant séparant deux électrodes.

Celle-ci est définie par la surface des électrodes, la distance qui les sépare ainsi que la capacité diélectrique du matériau.

Un dernier mécanisme de conduction qui peut être présent dans une cellule électrochimique est la diffusion. Il s'agit d'un processus mixte appartenant autant à l'impédance réelle que l'impédance imaginaire. La diffusion décrit la formation d'un gradient de concentration dans une solution qui couvre un mélange de la résistance de l'électrolyte et la capacitance double-couche. Elle peut exister sous deux formes, la diffusion infinie et la diffusion limitée. Celles-ci se différencient par la longueur caractéristique de ce gradient qui est définie par les lois de Fick appliqué à un courant alternatif. Cette loi est présentée dans l'équation 6 où  $\lambda$  est la longueur caractéristique,  $D$  est le coefficient de diffusion de l'ion et  $\omega$  est la vitesse radiale de l'impulsion électrique [89].

$$\lambda = \sqrt{D/\omega} \quad \text{Eq.6}$$

Lorsque cette distance est plus grande que le milieu disponible, par exemple lorsque les deux électrodes sont trop proches l'une de l'autre ou encore lorsqu'une membrane est plus mince que celle-ci, il est question de diffusion finie. Puisque la fréquence a un impact sur la diffusion, il existe aussi un cas pour lequel le processus est limité qu'en dessous d'une certaine fréquence. Cette situation est appelée diffusion semi-infinie.

Au final, chaque composante va s'additionner avec les autres selon qu'elle soit respectivement parallèle ou en série, pour donner une valeur d'impédance propre au système dans les conditions utilisés. Le tableau 2.2 fait étalage des équations qui lient les différents éléments électriques communs à l'impédance

**Tableau 2.2 :** Réponses des composants électriques communs selon une mesure du courant en fonction du voltage ou d'une mesure d'impédance (Adapté de C. Beasley 2015 [87]).

Composant	Courant en fonction du voltage	Impédance
Résistance (R)	$E = I \cdot R$	$Z = R$
Inductance (L)	$E = L \cdot di / dt$	$Z = j \cdot \omega \cdot L$
Capacitance (C)	$I = C \cdot dE / dt$	$Z = 1 / (j \cdot \omega \cdot C)$

## 2.4.2 Présentation des résultats

Comme l'impédance est une valeur complexe, il existe plusieurs moyens de présenter l'ensemble des éléments qui la composent. La première méthode sert à tracer chacun de ces éléments en fonction de la fréquence du courant alternatif appliqué au système étudié. En plaçant la fréquence de manière logarithmique sur l'axe des x, il est possible de tracer un graphique de Bode. Pour présenter ainsi l'ensemble de l'impédance complexe, il est d'usage d'utiliser un couple de graphiques. Bien que ce couple puisse être composé de

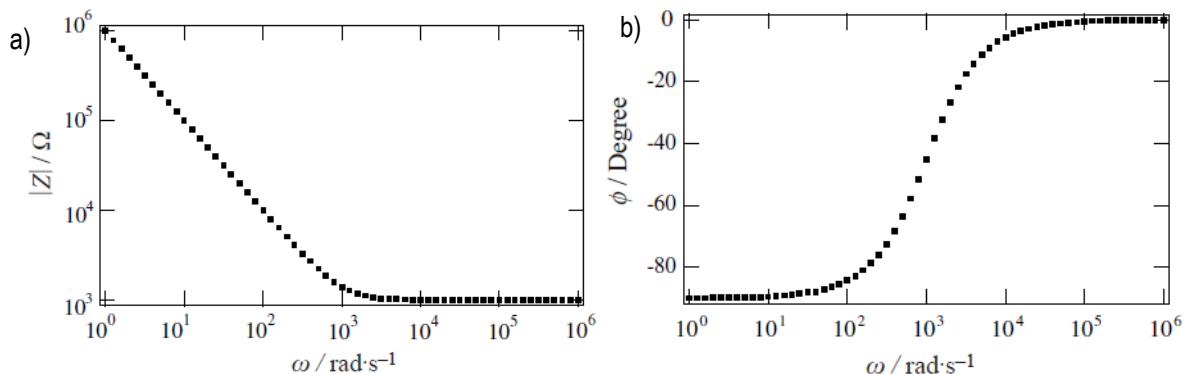
n'importe quel élément, il est généralement question du module avec la phase ou de l'impédance réelle avec l'impédance imaginaire dont des exemples sont fournis en annexe à la figure A1 a) et b).

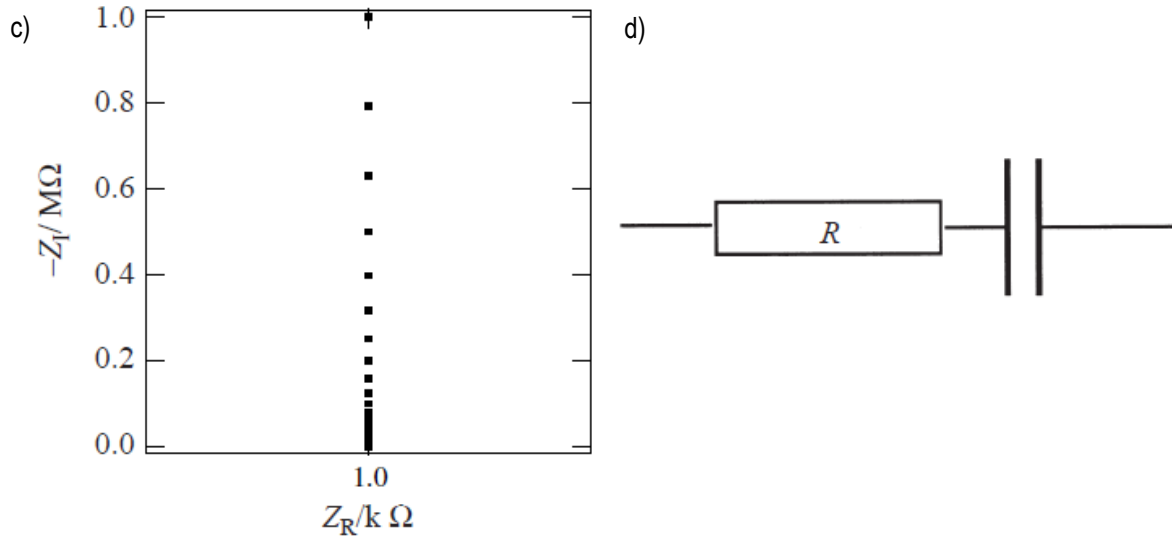
Avec ces valeurs, il est possible par trigonométrie de retrouver le vecteur d'impédance complexe. Ces vecteurs peuvent aussi être tracés dans un graphique de Nyquist, plaçant l'inverse de l'impédance imaginaire en fonction de l'impédance réelle. Dans ce graphique, dont un exemple est donné en annexe à la figure A1 c), chaque point correspond à l'impédance complexe pour une fréquence donnée. Les hautes fréquences qui donnent de plus faibles résistances à la gauche et les plus basses à la droite.

Alors que le premier type de graphique est particulièrement intéressant pour l'analyse quantitative de la spectroscopie d'impédance, dut à l'information en lien avec la fréquence qui informe beaucoup sur la cinétique de la conduction, le graphique de Nyquist donne le réel profil de conduction du système étudié. Ce profil permettra d'établir le circuit équivalent du système étudié qui à son tour permettra l'étude spécifique des différents mécanismes de conduction.

### 2.4.3 Détermination du circuit équivalent

L'étude du circuit équivalent d'un système électrique est essentielle pour décortiquer l'impédance complexe en ses différentes sources dans un même système. Ceci permet donc de trouver des conditions optimales en potentiels et en fréquences pour cibler un mécanisme de conduction influencé par ce qui est choisi comme élément à analyser. Dans le cas de ces travaux, il s'agit de la concentration d'un analyte, le nitrate. Comme mentionné précédemment, il est important de bien connaître et de bien étudier le profil du graphique Nyquist.

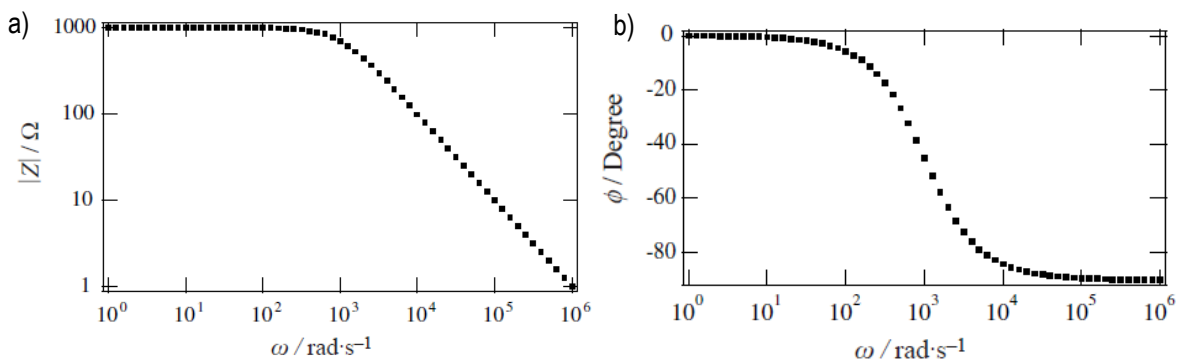


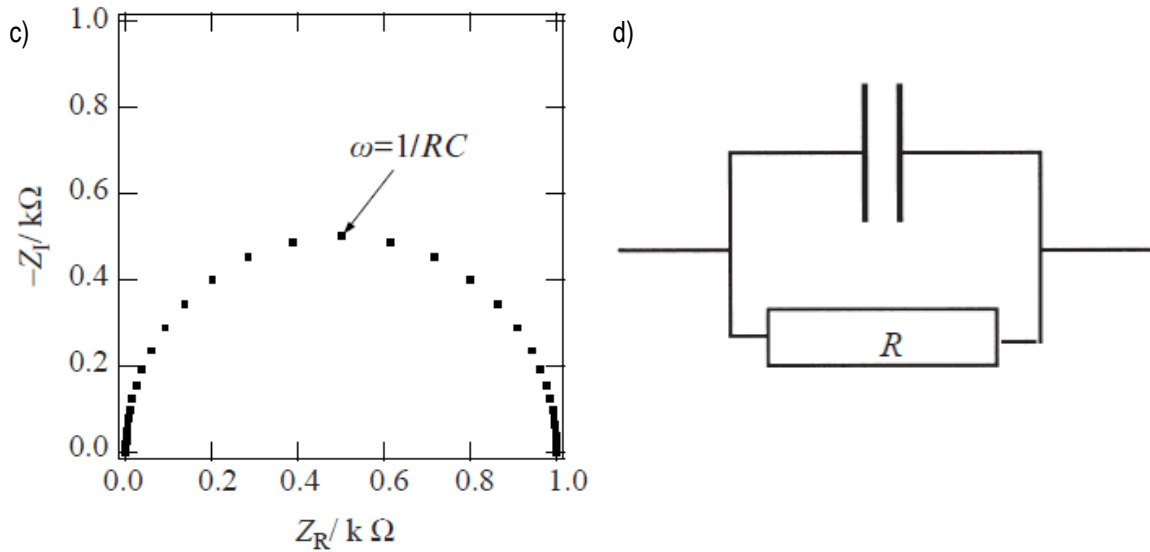


**Figure 2.5 :** Impédance complexe d'un circuit RC en série selon a) un Bode du module  $|Z|$ , b) un Bode de la phase  $\Phi$ , c) le Nyquist et d) le circuit équivalent où  $R = 1$  kOhm et  $C = 1$   $\mu$ F [40].

Dans cette section du mémoire, il sera question de quelques exemples de circuit électrique équivalent qui serviront à démontrer les différents éléments en action lors d'une mesure. Chacun de ces résultats sera illustré par les graphiques de Bode du module et de la phase ainsi que par le graphique Nyquist. Dans un premier temps, il sera question de montrer la différence entre un modèle RC en série (figure 2.5) et un modèle RC en parallèle (figure 2.6).

Dans le circuit en série, l'impédance réelle est constante à toutes les fréquences alors que la capacitance est maximale à basse fréquence et quasiment nulle à haute fréquence. À haute fréquence, il n'y a donc que la résistance qui offre une contribution à l'impédance, ce qui explique l'angle de phase nulle et le module d'impédance stable à une valeur minimale. En considérant une capacitance parfaite, l'impédance continuera d'augmenter infiniment avec la baisse de la fréquence, tant et aussi longtemps que le potentiel n'atteindra pas le point de claquage auquel le diélectrique du condensateur devient conducteur.



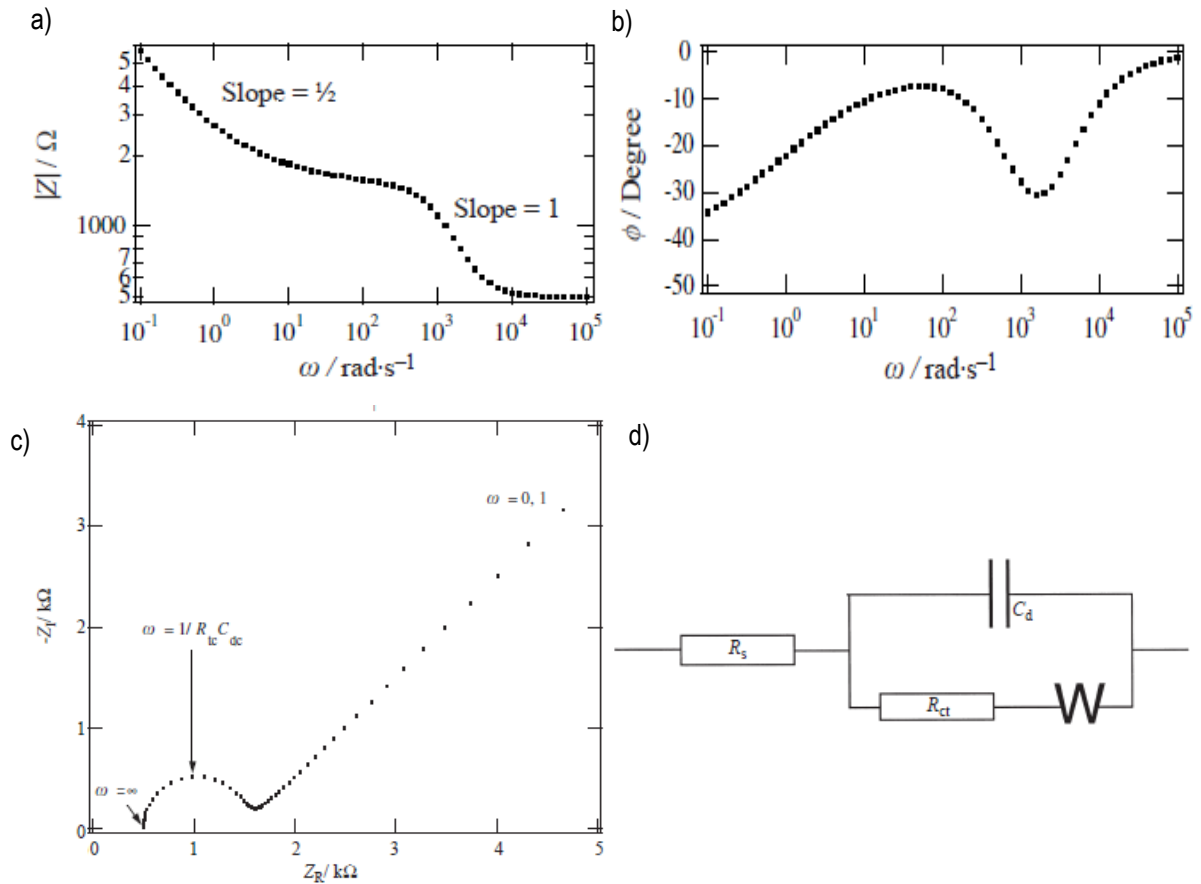


**Figure 2.6:** Impédance complexe d'un circuit RC en parallèle selon a) un Bode du module  $|Z|$ , b) un Bode de la phase  $\Phi$ , c) le Nyquist et d) le circuit équivalent où  $R = 1 \text{ k}\Omega$  et  $C = 1 \mu\text{F}$  [40].

Dans le circuit en parallèle, le graphique Nyquist démontre une forme de demi-cercle caractéristique. Celui-ci démontre l'aspect d'options multiples disponibles pour la conduction. Comme le courant essaie toujours de passer par le chemin avec le moins d'impédance. Comme la capacitance varie en fonction de la fréquence, le chemin de la résistance est favorable à basse fréquence, menant à une impédance maximale et purement réelle. À haute fréquence, l'impédance de la capacitance est quasiment nulle et offre donc un parcours à très faible impédance dans ces conditions. Entre les deux, les deux chemins sont utilisés jusqu'à une séparation parfaite du courant entre les deux parcours qui est décrite par le sommet du demi-cercle. Comme l'apport de cette capacitance n'est là que dans cette plage de fréquence, ceci explique le pic dans la phase de l'impédance complexe.

Un dernier modèle plus compliqué sera étudié en exemple dans ce mémoire. Il s'agit de l'un des modèles communs utilisés pour interpréter une cellule électrochimique. Ce modèle présenté à la figure 2.7 est appelé la cellule de Randle et est composé d'une résistance de l'électrolyte ( $R_s$ ), d'une résistance de transfert de charge ( $R_{ct}$ ), d'une capacitance double-couche ( $C_{dl}$ ) et d'une diffusion de type Warburg ( $W$ ).





**Figure 2.7:** Impédance complexe d'une cellule de Randle selon a) un Bode du module  $|Z|$ , b) un Bode de la phase  $\Phi$ , c) le Nyquist et d) le circuit équivalent où  $R_s = 500 \text{ Ohm}$ ,  $R_{ct} = 1 \text{ kOhm}$ ,  $C_d = 1 \text{ }\mu\text{F}$  et le facteur de Warburg  $\sigma = 1000 \text{ Ohm}\cdot\text{rad}^{1/2}\cdot\text{s}^{-1/2}$  [40].

Dans ce système, le courant à haute fréquence circule de manière capacitive ou la résistance de la solution définit l'impédance. Puis, lorsque l'impédance de la capacitance devient trop élevée, c'est la résistance de transfert de charge, puis la diffusion qui limitent le passage du courant. L'on reconnaît dans le graphique Nyquist le profil caractéristique d'une diffusion de type Warburg dont la droite à tracer avec un angle exact de  $45^\circ$ . Ce transfert de parcours et l'absence d'une stabilité dans l'impédance à basse fréquence peuvent être observés facilement par les différents graphiques de Bode de ce système.



## Chapitre 3 : Cadre méthodologique

Ce chapitre vise à expliquer les choix de matériels et de méthodes utilisés dans les travaux de ce mémoire. Il sera d'abord question de la fabrication des senseurs incluant la synthèse de l'ionophore. Ce procédé expliquera la démarche établit pour répondre à l'objectif iii). Il sera ensuite question de trois méthodes d'analyses faisant l'utilisation des senseurs électrochimiques. Le premier volet couvre les mesures effectuées en solution alors que le deuxième s'intéresse aux mesures effectuées en substrat de croissance. Finalement, le dernier volet survol les tests faits directement en pépinières forestières.

### 3.1 Préparation des senseurs électrochimiques

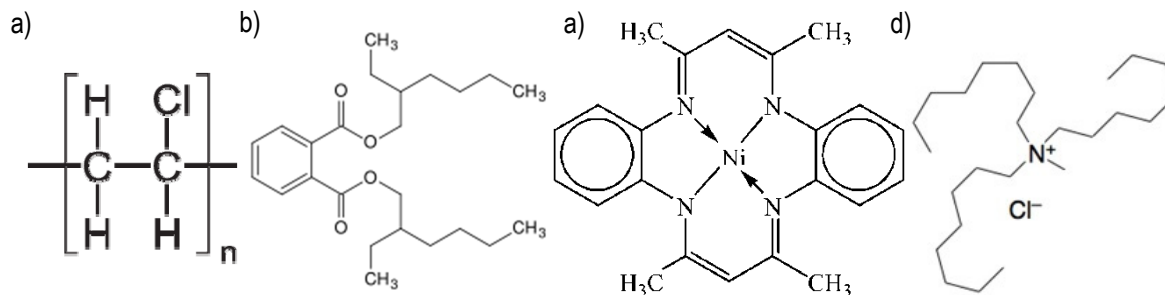
Tel que décrit dans la section 2.3, l'élément principal du senseur électrochimique est la membrane sélective aux ions. La description des composantes débutera donc par les différents composants de cette membrane en incluant le protocole de synthèse de ceux produits en laboratoire. Cette description sera poursuivie par l'étude des composantes qui serviront de support à cette membrane avant de terminer par la définition du protocole utilisé pour l'assemblage de tous ces éléments.

#### 3.1.1 Composantes du senseur

Le senseur développé dans le cadre de ces travaux est constitué des éléments suivant : la membrane sélective, les électrodes, les connexions et le support. La membrane sélective aux ions est composée de quatre éléments dont la sélection est inspirée de la littérature des électrodes potentiométriques sélectives au nitrate. Celle-ci est faite à partir d'une matrice de polychlorure de vinyle (PVC) de haute masse molaire et de bis-ethylhexyl phtalate (BEHP). Les deux produits ont été procurés commercialement par l'entremise de Sigma-Aldrich et utilisés sans étape de purification supplémentaire. Toujours en se basant sur la littérature, le ratio massique de plastifiant et de polymère utilisé est de deux pour un. Ce mélange permet d'atteindre les propriétés requises pour une bonne efficacité du senseur. La plus importante outre la solubilité est en lien avec la température et avec les produits utilisés. Des analyses faites précédemment au sein du groupe de recherche ont montré que la Tg de cette matrice était d'environ -80 °C. Ceci garantit donc que les températures d'utilisation resteront bien au-dessus de cette température critique.

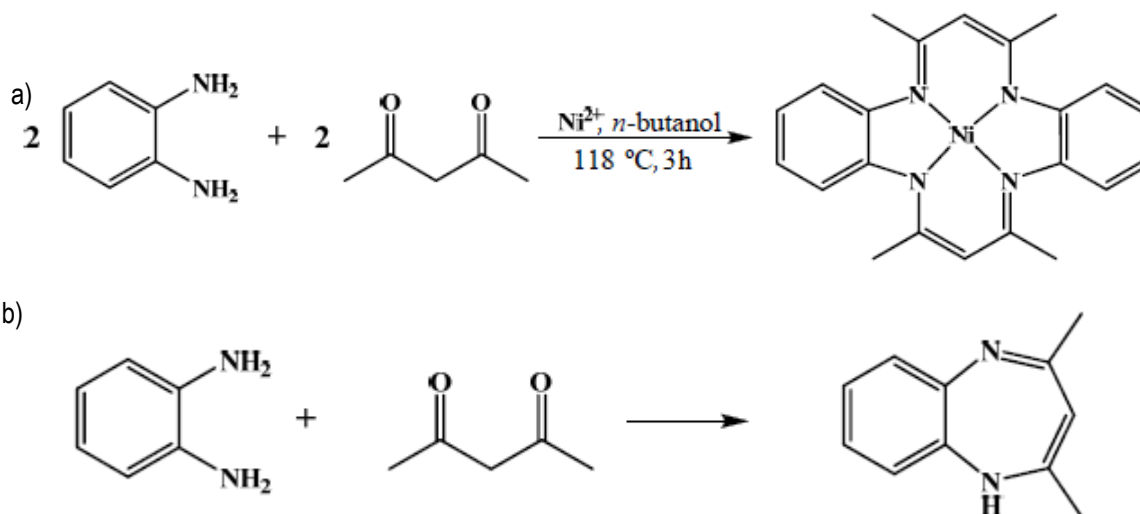
À cette matrice, un ajout d'agents actifs de 10% massique a offert les meilleurs critères de réponse en électrode potentiométrique. Cet ajout en soit est constitué de chlorure de trioctylméthylammonium (TOMAC) et du complexe tétraméthyl cyclotétra-décanato-nickel (II) (NiTMTAA). Ces molécules représentent respectivement 30% et 70% massiques des agents actifs ajoutés à la membrane. Ce ratio massique apporte la représentation molaire donnant un excès important du complexe qui joue le rôle d'ionophore. Le TOMAC

est disponible commercialement et a été acheté chez Sigma-Aldrich puis utilisé sans purification supplémentaire.



**Figure 3.1 :** Les différentes molécules composant la membrane sélective aux ions : a) PVC, b) BEHP, c) NiTMTAA et d) TOMAC

Le NiTMTAA pour sa part a été préparé en laboratoire en suivant le protocole décrit dans la littérature qui le documente [90, 91, 92]. La réaction illustrée à la figure 3.2 montre les interactions entre les réactifs et les produits qui en font partie. La réaction se fait dans l'alcool, plus spécifiquement le n-butanol pour sa température d'ébullition de 117 °C qui accélère les processus et qui améliore le rendement en aidant l'expulsion de l'eau libéré par la réaction. Les réactifs sont le nickel (II) acétate tétrahydrate, l'*o*-phényldiamine et 2,4-pentadione. Ils ont tous été procurés auprès de Sigma-Aldrich et utilisés sans purification supplémentaire. La réaction comprend tout d'abord l'attaque du carbonyle du 2,4-pentadione par l'amine de l'*o*-phényldiamine. En présence d'un métal comme le nickel libéré par la solvation du nickel (II) acétate tétrahydrate, la formation du cycle est guidée par la coordination qui mène à la formation du macrocycle. En revanche, si la réaction se fait en l'absence du métal, le processus décrit à la figure 3.2b) est observé, menant à l'un des produits secondaires principaux.



**Figure 3.2 :** Réactions de la synthèse du NiTMTAA, un macrocycle de Geodken où a) est la réaction de cyclisation en présence du nickel et b) est la réaction de cyclisation en absence du métal [91].

Suite à la réaction faite à reflux en trois heures sous agitation, le tout est refroidi pour ensuite être précipité par l'ajout de méthanol sur bain de glace. Le suivi de réaction peut se faire facilement par le suivi des changements de couleur marquant l'apparition des différents produits, le macrocycle de nickel étant vert foncé en solution et le macrocycle organique est mauve. Le précipité peut être obtenu par filtration et nettoyé avec du méthanol jusqu'à l'écoulement d'un filtra vert très pâle à transparent. Une fois séché sous vide, le produit pourra être analysé par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), spectroscopie ultraviolet-visible (UV-Vis) et résonance magnétique nucléaire du proton ( $H^1$  RMN). Les spectres attendus sont les suivants :

UV-Vis ( $CH_2Cl_2$ )  $\lambda_{max}$  (les coefficients d'extinction sont donnés en parenthèses,  $mol^{-1} L cm^{-1}$ ) :  
272 nm (30 700), 398 nm (37 700) et 592 nm (6700).

FT-IR (KBr,  $cm^{-1}$ ) : 3062 (w, =C-H), 3040 (w, C=C), 2922 (w, C-H), 2900 (w, =C-H), 1546 (m, C=C), 1462 (s, N=C-C), 1386 (m, C=C-H), 1281 (w, C-N), 1207 (m, C=C-H), 737 (m, C=C-C), 696 (w, C-H).

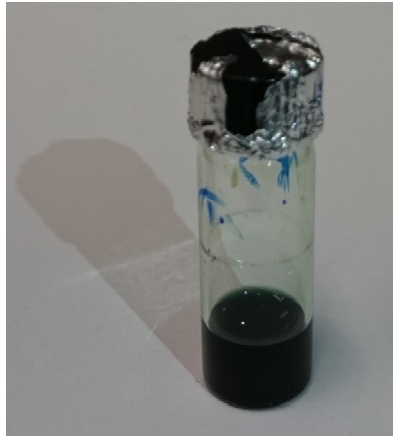
$H^1$  RMN ( $CCl_4$ );  $\delta$  2,1 ppm (12H),  $\delta$  4,9 ppm (2H) et  $\delta$  6,6 ppm (8H).

Un rendement typique de 37 à 40% est attendu sous la forme d'un microcristal mauve sombre. Le macrocycle est connu sous le nom de macrocycle de Geodken et est reconnu principalement pour sa grande solubilité et sa cristallinité dans plusieurs complexes.

Cette poudre cristalline sera mélangée aux autres poudres pour préparer la membrane avant l'ajout des composants liquides. Le premier composant est le PVC de haute masse molaire ( $M_w = 80\ 000$ ,  $M_n = 47\ 000$ ) et le deuxième est le TOMAC. Ce dernier doit être manipulé avec précaution et rapidité, car sa température de fusion est proche de la température ambiante. Une première moitié du solvant, le tétrahydrofurane (THF), est ajouté au mélange avant d'ajouter à la seringue le BEHP. À la suite le reste du solvant est ajouté avant de laisser la membrane se solubiliser toute une nuit. Il a été estimé que pour le modèle de senseur utilisé, 0,1 g de membrane était suffisant pour produire un bulbe capable de recouvrir la totalité des électrodes d'un senseur. De plus, pour avoir une viscosité similaire d'une préparation à l'autre, 1 ml de THF est utilisé par 0,1 g de membrane.

Pour le support, il sera question de l'usage de deux composantes principales. Premièrement, une tige d'alumine comportant un double cœur creux parallèle séparé par 0,6 mm (Non-Porous High Alumina Ceramic Tube, 2 Bore, .188" OD X .063" ID, 24" Length, McMaster-Carr. 87175K84) sera utilisée comme support rigide. L'alumine a été choisie pour sa grande résistance mécanique, chimique et diélectrique. Deuxièmement,

des fils multibrins de cuivre (923UL-9 de Consolidated Electronic Wire and Cable) serviront à la fois d'électrodes et de connexions. Le diamètre des fils incluant la gaine étant le même que celui des cavités de la tige, ils sont directement compatibles et le fait qu'ils soient multibrins assure une meilleure résistance mécanique de ceux-ci face aux manipulations répétées. La grande conductivité du cuivre en fait une bonne électrode, profitant d'une mince couche d'aluminium en surface elle offre aussi une certaine stabilité face à la corrosion. Le principal avantage de leur utilisation est leur faible coût qui aide grandement à réduire le prix de fabrication pour permettre d'atteindre les objectifs du développement de cette nouvelle technologie.



**Figure 3.3 :** Photo de la membrane sélective aux nitrates en solution dans du THF.

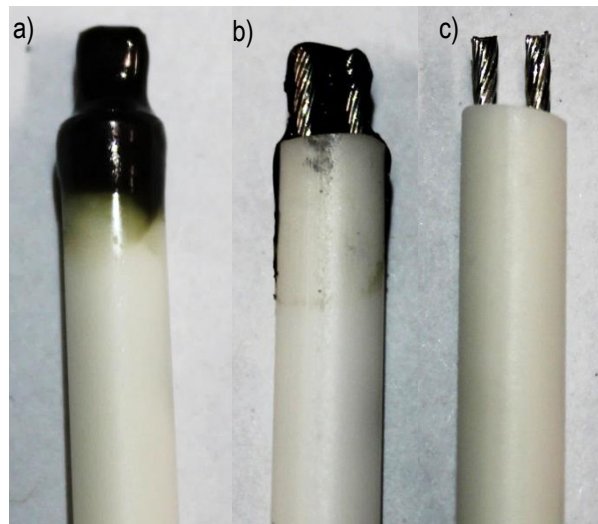
### 3.1.2 Protocole de fabrication

La première étape de la production est la préparation du support. D'abord, la tige d'alumine est coupée à la longueur désirée, de 5 à 10 cm pour les utilisations de laboratoire, cette longueur permettant d'accommoder les besoins de fixation et de maniabilité à cette échelle. Au sein des cavités de cette structure, deux câbles d'une longueur d'environ 20 à 30 cm seront insérés de manière à sortir aux deux extrémités de la tige. À l'une de cette extrémité, les câbles seront dégainés et coupés minimalement afin de laisser 5 mm de câbles libres. Pour assurer la cohésion des différents brins pour former l'électrode, les brins sont torsadés manuellement. Les câbles peuvent ensuite être rétractés pour ne laisser dépasser que la partie dégainée au bout de la structure rigide, formant ainsi les deux électrodes métalliques du senseur électrochimique.

Les différents éléments du support sont fixés en place depuis l'extrémité de la tige opposée aux électrodes. Le premier élément de fixation est un ruban de téflon qui est appliqué à répétition pour prévenir le contact des deux câbles ensemble. L'adhérence de ce matériel sur la gaine des câbles est suffisante pour prévenir le mouvement de ceux-ci. Pour compléter la fixation, du ruban adhésif électrique est utilisé pour recouvrir le tout et ainsi rigidifier cette partie de la structure. L'extrémité encore protégée de chaque câble peut être dégainée

sur une courte longueur pour fournir le contact nécessaire à une bonne connexion, généralement environ 1 cm.

La deuxième étape est l'application de la membrane sélective sur les électrodes métalliques. Le procédé utilisé est une succession de trempage et de séchage et a pour but de former un bulbe englobant totalement et uniformément les deux électrodes par l'accumulation de couches minces. Lors de cette procédure, une attention particulière est portée au développement de la membrane entre les deux électrodes pour prévenir la formation de bulles. Celles-ci ont tendance à apparaître par l'évaporation du solvant dans cet espace ayant une interface limitée avec l'air ambiant. Un autre point à observer de près est la finition du bulbe à la pointe des électrodes. Un phénomène de rétraction peut être observé pendant le séchage de la membrane, laissant la composante métallique directement en contact avec l'extérieur. Pour assurer une bonne déposition, les senseurs sont laissés à sécher sous hotte pendant toute une nuit.



**Figure 3.4** : Photo de la tête du senseur électrochimique avec a) un bulbe de membrane sélective complet, b) une coupe transversale du bulbe de membrane sélective et c) sans la membrane.

L'utilisation de composantes peu dispendieuses et robustes permet d'accommoder plusieurs des attentes nécessaires aux objectifs du projet. À l'échelle du laboratoire, le matériel utilisé pour la fabrication d'un senseur est estimé à 5 \$. De plus, l'utilisation d'une membrane sélective soluble peut s'adapter à plusieurs mises en forme incluant l'enduction centrifuge (spin-coating) qui faciliterait son intégration sur les plateformes CMOS. Sa structure actuelle s'adapte aussi aux formats d'échantillons à analyser, principalement par sa taille et sa forme comparable à celle d'un crayon. Avec des connexions électriques simples, il serait imaginable d'assembler plusieurs senseurs sur un même appareil pour la production d'un senseur intégré faisant appel au multiplexage pour effectuer toutes ses mesures.

## 3.2 Analyse électrique en solutions

Les premières utilisations du senseur électrochimique couvertes dans ce mémoire s'adressent à des mesures faites en solutions préparées en laboratoire. Ce choix a été fait pour optimiser le contrôle et la connaissance de la composition de l'échantillon analysé. Les solutions utilisées tout au long de ces travaux ont été préparées à partir d'eau distillée (18 M $\Omega$ ·cm) et de sels de grade sélectophore (Sigma-Aldrich). Pour obtenir des concentrations précises, les solutions sont préparées par gravimétrie, utilisant l'eau pure comme référence pour définir l'incertitude de la concentration. En général, les concentrations visées ont été choisies en s'appuyant sur la littérature, soit de 10<sup>-1</sup> mol/L à 10<sup>-8</sup> mol/L. Par défaut, les concentrations seront décrites en fonction de l'analyte en mg/L, par exemple : 62 mg/L de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> pour une solution de 10<sup>-3</sup> mol/L de KNO<sub>3</sub>.

Les premières analyses électriques faites en solution avec les senseurs électrochimiques seront appelées mesures d'impédance. Ces mesures sont des lectures ponctuelles du spectre d'impédance d'un système par l'usage d'une seule fréquence. Pour accomplir cette lecture, les senseurs seront connectés à un LCR-meter modèle 720 de Stanford Research. Cet appareil lit l'impédance et l'interprète à travers un circuit équivalent simple. Le circuit sélectionné pour l'utilisation des senseurs électrochimiques est un circuit résistance-capacitance en série (RC<sub>série</sub>). Celui-ci permet d'extraire une bonne estimation de la composante réelle, par la résistance, et de la composante imaginaire, par la capacitance, de l'impédance complexe [93].

Suite à des travaux faits précédemment dans le groupe de recherche, certaines variantes de ces mesures ont déjà été explorées. En tenant compte de celle-ci, les facteurs utilisés pas défaut sont les suivants : fréquence 1 kHz, voltage 1V, temps entre les mesures 0,01 s, vitesse de mesure moyenne, temps de conditionnement 120 s, temps d'ajustement de 2 ms, 30 acquisitions et une portée de 100 k $\Omega$ . Le temps de conditionnement vient de l'interface Labview développée par le groupe de recherche permettant l'intégration du LCR-meter et des résultats sur une base informatique. Il définit un temps d'attente pendant lequel le courant est appliqué sans que la mesure soit enregistrée, dans le but d'assurer la stabilisation du système et de la mesure.

Avant d'utiliser les résultats obtenus par un senseur, des séquences de mesures seront faites sur la plage de concentration de l'étude pour assurer la stabilité du système. Ceci permet par exemple de faire la libération des chlorures de la membrane qui sont amenés par le TOMAC. Cette étape de vieillissement est répétée jusqu'à ce que deux séries de mesures donnent les mêmes résultats, montrant la stabilité temporelle du senseur.

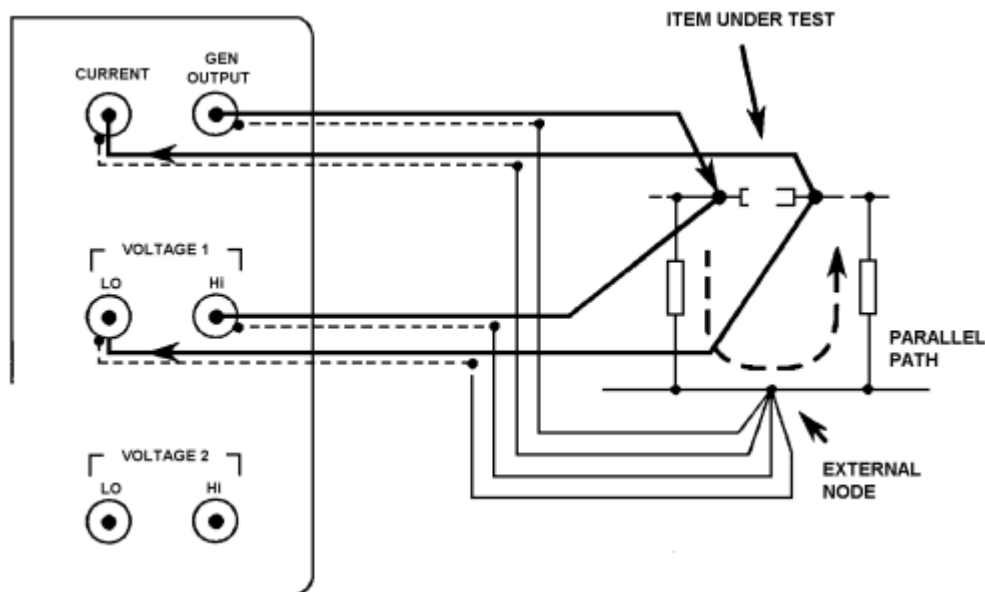
Une fois le senseur préparé et stabilisé, il sera utilisé en solution pour établir une courbe de calibration. Celle-ci est établie par une séquence de mesures faite sur chacune des huit concentrations préparées selon la procédure décrite précédemment. Chaque séquence comprend une mesure faite dans trois échantillons



d'environ 10 ml de solution contenus dans un bécher de 15 ml. Il y aura donc trois mesures par concentration. La nécessité de changer d'échantillon vient du relargage d'ions du senseur vers la solution. À moins d'avis contraire, les mesures sont faites de la plus faible concentration vers la plus grande pour cette même raison.

Pour évaluer la sélectivité du senseur, des mesures seront faites dans des solutions contenant différents sels. Selon le choix du sel, il sera possible de trouver l'impact de la nature de l'anion et du cation sur la mesure d'impédance. Bien que la meilleure méthode soit les mesures avec interférence mixte (FIM), les mesures avec deux solutions d'ions séparés [12, 94] sont plus faciles à mettre en place pour une première étude de la sélectivité. Dans ce test, la courbe de calibration de l'ion d'intérêt sera comparée à celles obtenues avec d'autres sels en solution de même concentration.

La deuxième série d'analyses en solutions couvertes dans ce mémoire sera identifiée comme spectroscopie d'impédance. Pour ce test, les senseurs électrochimiques seront utilisés avec un appareil d'analyse de gain et de phase modèle 1260 de Solartron. Cet appareil permet de faire la mesure d'impédance sur une large plage de fréquence afin d'établir l'ensemble du spectre. Pour connecter le senseur à l'interface, quatre câbles de type connecteurs Bayonet Neill-Concelman (BNC) et sondes seront utilisés selon le schéma de la figure 3.6. Les lectures effectuées couvrent de manière logarithmique les fréquences de 1 Hz à 1 MHz en faisant une lecture de 10 cycles pour chacune des 25 fréquences analysées par saut de base 10 ( $10^{0,00}$  Hz,  $10^{0,04}$  Hz,  $10^{0,08}$  Hz, ...  $10^{1,00}$  Hz,  $10^{1,04}$  Hz, etc).



**Figure 3.6 :** Schématisation de l'interface de connexions au Gain/Phase Analyser 1260 de Solartron par l'utilisation de câbles BNC-sonde brancher sur le senseur électrochimique (Item under test) et mis à la terre (external node) [95].

Pour les mesures, une attention particulière sera portée à la linéarité de la réponse du senseur en fonction du voltage du courant alternatif appliqué pour la mesure. Il sera ensuite question d'étudier la réponse du senseur en fonction de la concentration du nitrate en solutions pour établir un circuit équivalent du système. Selon les résultats obtenus, il est probable que la plage de résultats utilisés pour déterminer ce circuit équivalent soit réduite, par exemple qu'au domaine de linéarité de l'impédance en fonction de la concentration ou encore sur une plus petite plage de fréquence. Il est important de noter que la modélisation d'un circuit électrique par spectroscopie d'impédance n'est pas absolue et que les résultats présentés ici seront une première interprétation qui devra être confirmée par les travaux futurs qui approfondiront la connaissance des senseurs électrochimiques.

### **3.3 Analyse électrique en substrats de croissance**

L'utilisation des senseurs pour faire le dosage des nitrates en substrat de croissance sera couvert en détails dans le manuscrit de l'article présenté au chapitre 6. La méthodologie utilisée en laboratoire certifié et en pépinière forestière sera donc documentée à la section 6.4.

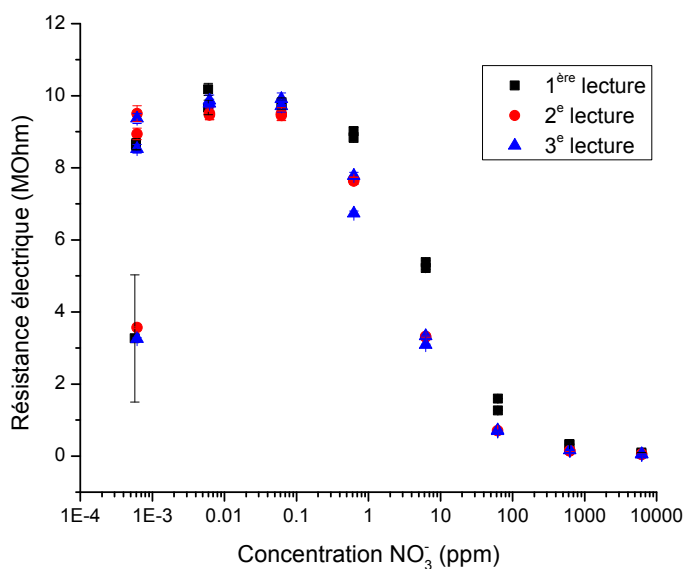
## **Chapitre 4 : Résultats et discussion des mesures d'impédance en solutions**

Le contenu de ce chapitre s'adresse à l'objectif iv) qui vise à décrire l'efficacité du capteur pour le dosage des nitrates en solutions. Pour y arriver, plusieurs analyses seront faites en solutions préparées en laboratoire en suivant le protocole de mesures d'impédance décrit à la section 3.2. La première série de résultats servira à étudier la sensibilité du capteur ainsi que son domaine de réponse en impédance et en concentration dans des conditions pures. Comme des variations sont attendues entre l'électrode potentiométrique qui a inspiré le capteur électrochimique et celui-ci, une analyse utilisant des capteurs portant une membrane décomposée permettra d'évaluer l'apport de chaque composante sur la mesure d'impédance en solution pure. La deuxième série de résultats vise l'étude de la sélectivité du capteur par l'utilisation de solutions pures de différents sels. L'ensemble de la présentation des résultats sera intercalé de discussions sur l'interprétation de ceux-ci de manière à mettre de l'avant le cheminement menant d'une analyse à l'autre ainsi que l'évolution de la compréhension du capteur entre chacune d'elles.

### **4.1 Mesures électriques en solutions pures**

Comme première mesure présentée dans ce mémoire, un capteur sera utilisé dans une série de solutions de  $\text{KNO}_3$  pour établir une courbe de calibration. La série de mesure sera reprise à différentes journées subséquentes pour étudier le vieillissement et la stabilisation du capteur. Dans cette étude, il sera question des deux éléments du circuit en fonction de la concentration en nitrate : la résistance (figure 4.1) et la capacitance (figure 4.2).

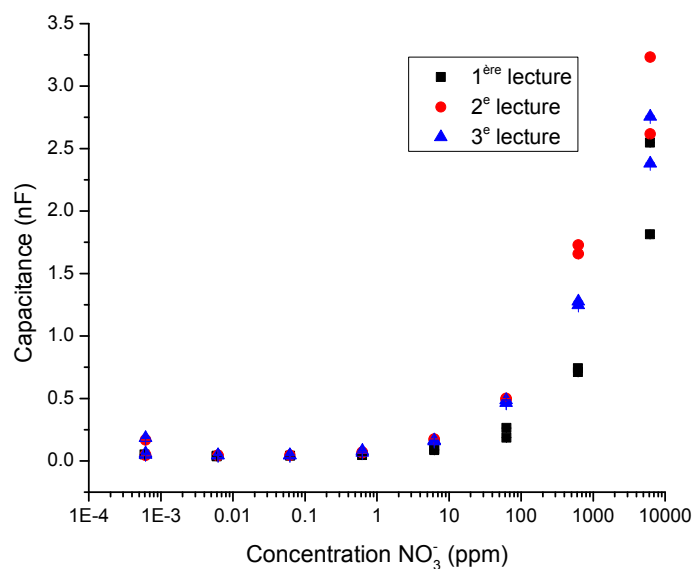
La réponse du capteur lors d'une mesure d'impédance en solution est donnée en trois régimes. À basse concentration, le signal est stable à une résistance élevée, supérieure à 8 MOhm. À partir d'environ 0,06 ppm, un deuxième régime de réponse apparaît. Celui-ci est le plus important car il montre une réponse linéaire de la résistance en fonction de la concentration. Ce domaine définit le domaine de réponse linéaire en concentration et en impédance. À partir d'environ 60 ppm, la réponse du capteur commence à atteindre une valeur planché qui donne place à un nouveau régime qui est stable en impédance pour les concentrations les plus élevées. L'ensemble du profil de réponse s'approche d'une réponse sigmoïdale, offrant une option supplémentaire pour faire la régression linéaire des mesures au-delà du domaine linéaire.



**Figure 4.1 :** Courbe de calibration de la résistance électrique en fonction de la concentration de nitrate pour un capteur électrochimique.

Un autre aspect observable à ces résultats est le phénomène de stabilisation dans le temps du capteur suite à son utilisation. Après une première série de lecture, il est possible d'observer une faible baisse de résistance. Toutefois, la similarité entre la deuxième et la troisième lecture suggère une stabilisation du nouvel état du capteur. De plus, les valeurs les plus faibles en impédance observées lors des premières mesures à faible concentration sont associées à la libération des ions présents dans la membrane du capteur qui se libère dans l'échantillon. La cinétique de cet échange et l'augmentation de la concentration même de l'échantillon en nitrate peuvent expliquer cette situation.

Les résultats capacitifs de la mesure d'impédance du capteur électrochimique montrent un tout autre profil de réponse qui se divise en deux régimes. Le premier couvre un large domaine de concentration en commençant par les plus faibles. Pour ce domaine, les valeurs de capacitance sont basses et relativement stables. Ce n'est qu'à partir d'environ 60 ppm que la capacitance commence à croître. Son profil suggère une augmentation exponentielle, toutefois le domaine de ce régime est trop limité par les concentrations utilisées pour le confirmer.



**Figure 4.2 :** Courbe de calibration de la capacitance en fonction de la concentration de nitrate pour un senseur électrochimique.

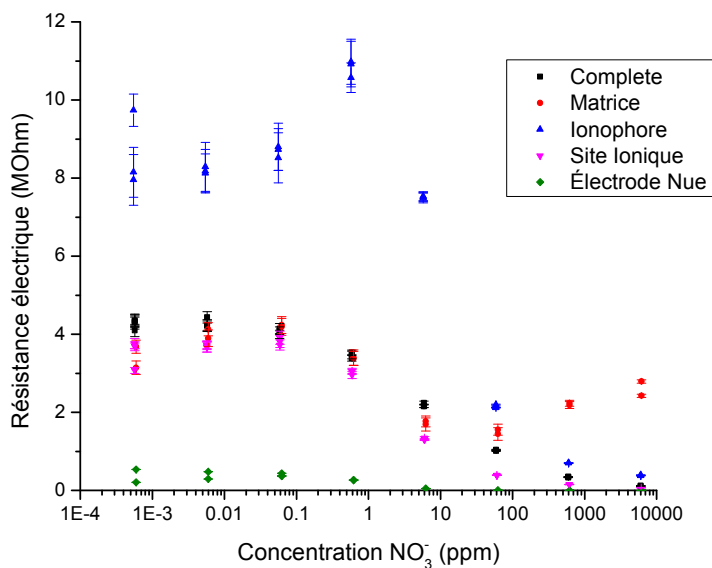
Suite à l'observation de ces résultats, il est possible de proposer un premier mécanisme d'interaction qui expliquerait le profil de réponse du senseur électrochimique en solution. D'abord, à basse concentration, l'activité ionique en solution est trop faible pour permettre des interactions avec la membrane sélective. Comme l'énergie de solubilisation du nitrate est supérieure à celle de sa liaison avec l'ionophore et la stabilisation de la charge du site ionique, l'ion reste dans l'échantillon. La mesure stable de ce régime représente donc l'impédance de la membrane. Puis, lorsque les conditions deviennent favorables pour une interaction, il est suggéré que l'ajout d'ions au sein de la membrane, qui jouent le rôle de porteur de charges, facilite la conduction et donc, réduise la résistance du système. Lorsque les agents actifs de la membrane se saturent, il devient difficile pour les ions de trouver une porte d'entrée dans la matrice hydrophobe. C'est à ce même moment que commence à apparaître une forte augmentation dans la capacitance qui s'expliquerait par l'accumulation d'ion en surface de la membrane face à l'incapacité de se coupler avec des agents actifs pour y entrer. La capacitance serait donc attribuée à des phénomènes de surface causés par l'accumulation d'ions due à l'augmentation de l'activité ionique.

Cette étude présente aussi le vieillissement d'un senseur électrochimique suite à sa première exposition à une solution concentrée en nitrate. Bien qu'un changement marqué se voit dès la deuxième calibration, la courbe reste la même pour la troisième. Ce phénomène serait associé à l'échange des chlorures du TOMAC pour des nitrates voir même un simple relargage de l'ion d'origine vers l'échantillon. Cette évolution confirme donc l'importance de répéter la calibration d'un senseur avant de s'en servir pour faire des analyses. Ainsi, pour la

suite du chapitre, les courbes de calibrations utilisés seront celles faites à partir de la troisième lecture. Ce vieillissement pourra être remplacé par un conditionnement à la production à l'échelle industrielle.

En s'appuyant sur le modèle suggéré jusqu'ici et en connaissance du domaine de concentration à mesurer dans le cas d'intérêt du mémoire, la réponse de la résistance électrique du senseur est celle qui gardera l'attention. En effet, le domaine linéaire de celle-ci correspond parfaitement aux valeurs attendues dans l'application visée. Ainsi, pour la suite du chapitre, les résultats présentés se limiteront aux courbes de résistance électrique en fonction de la concentration.

À la suite de ces analyses, une nouvelle série de mesures a été pensée pour étudier l'apport de chaque composant de la membrane sélective sur la réponse du senseur. Pour ce faire, cinq senseurs différents ont été fabriqués et utilisés. Le premier est appelé « complet » et est constitué d'une membrane contenant tous les éléments nécessaires pour reprendre la membrane sélective utilisée en potentiométrie. Le deuxième, appelé « matrice » est un senseur dont la membrane ne contient aucun agent actif. Le troisième, est appelé « ionophore » et ne contient aucun site ionique, laissant le rôle d'agent actif à l'ionophore seulement. Le quatrième qui est appelé « site ionique » est au contraire constitué d'une membrane ne comportant aucun ionophore, donnant donc le rôle d'agent actif seulement aux sites ioniques. Le dernier, appelé « électrode nue », est un senseur sans membrane. Chacun de ces senseurs aura donc été stabilisé et utilisé dans la procédure de mesure d'impédance afin que les courbes de calibration de chacun soit comparées (figure 4.3).



**Figure 4.3 :** Courbes de calibrations de différents senseurs sélectionnés pour représenter la membrane sélective décomposée.

La décomposition de la membrane a permis d'obtenir des profils bien différents. Dans cette étude, la membrane complète a répété les résultats obtenus précédemment. Le senseur avec la matrice seule a démontré un profil de réponse similaire mais la valeur du plateau atteint à haute concentration est plus élevée. Même la stabilité de ce plateau est affectée alors qu'une augmentation de résistance se voit suivre la concentration après le point d'inflexion. La membrane comportant l'ionophore seul présente le plus grand changement. Non seulement son incertitude à faible concentration est beaucoup plus grande, son profil montre une augmentation significative à la concentration correspondant au point d'inflexion entre le régime à faible concentration et la réponse linéaire du senseur. La membrane composée d'une matrice contenant seulement le site ionique a montré une réponse presque identique à celle de la membrane complète. Finalement, les électrodes nues ont démontrés un profil de réponse similaire au premier senseur, partageant les mêmes trois registres de réponses, mais offrant une résistance beaucoup moindre pour l'ensemble des concentrations.

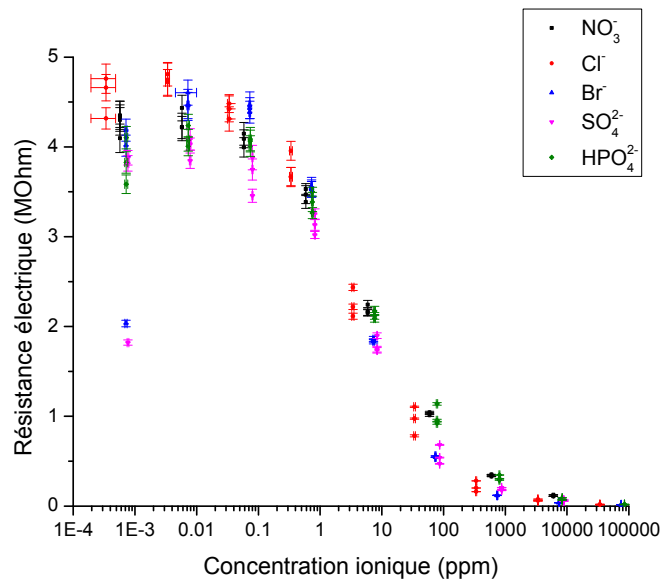
Plusieurs hypothèses peuvent être énoncées à la vue de ces résultats. Dans un premier temps, la similarité frappante entre la membrane complète et la membrane contenant seulement le site ionique suggère que cette molécule domine la mesure. Le site ionique étant lui-même porteur de charge et étant la principale source d'attraction des ions dans la membrane, il est possible que dans le cas des mesures d'impédance, il guide le comportement du senseur. Dans un deuxième temps, le fait que la matrice seule et les électrodes nues offrent un profil de réponse similaire à celui de la membrane complète pourrait suggérer la présence d'une interaction non négligeable provenant de l'échantillon, soit la solution de  $\text{KNO}_3$ . La membrane, en repoussant la solution, ferait augmenter la résistance et les sites ioniques permettraient d'avantage d'interactions qui à leur tour permettrait une réponse à plus haute concentration. Dans un troisième temps, la réponse complètement différente de la membrane avec seulement l'ionophore, qui offre généralement une résistance plus élevée, suggère que l'apport de cette molécule à la réponse du senseur est étouffé par les autres éléments. Le pic de résistance pourrait être attribué à un phénomène de surface important. Selon cette hypothèse, le potentiel d'activité ionique à cette concentration serait tel que la rencontre entre un ionophore et un ion d'intérêt serait fréquent, mais que celui-ci serait toutefois trop faible pour permettre la désolubilisation de l'ion. Se faisant, le couple ion-ionophore resterait en surface, réduisant la présence d'ionophore entre les deux électrodes provoquant ainsi une augmentation dans la résistance électrique. De plus, comme celui-ci est au cœur de la sélectivité, la perte de sa contribution pourrait avoir un grand impact sur cette propriété.

Les observations faites par cette étude ne doivent toutefois pas être prise avec le même absolu qui est représenté par le choix des différents senseurs. En effet, les différents composants travaillant de concert pour interagir avec l'échantillon, le comportement de chacun est interrelié aux autres. Les résultats obtenus peuvent

néanmoins être utilisés pour alimenter les réflexions menant à une meilleure compréhension du senseur et au développement d'une deuxième génération de prototypes.

## 4.2 Mesures de sélectivité au nitrate

À la suite de l'étude de la réponse du senseur en solutions pures, il reste un point majeur à définir pour évaluer de l'efficacité du senseur à faire le dosage des nitrates par mesures d'impédance : la sélectivité. Pour en faire l'observation, il sera question d'utiliser un senseur avec une membrane dite complète, dans différentes séries de solutions composées de différents sels. Dans le cas présenté, les sels utilisés sont des sels de potassium. Ceci permet de conserver le même contre-ion, minimisant ainsi les variables différenciant série de mesure d'une autre. La sélectivité sera donc évaluée par la comparaison des courbes de calibrations obtenues par le changement de la nature de l'anion présent en solution (figure 4.4). Selon les principes de la sélectivité, il est attendu que plus le coefficient de sélectivité est bon par rapport à un ion donné, plus la réponse en résistance électrique sera élevée, occasionnant ainsi un déplacement vers les plus hautes concentrations de l'ensemble du profil de la courbe. Un coefficient de 1 ferait donc qu'une concentration dix fois plus élevée ( $1 \times 10^1$ ) d'un ion donné serait nécessaire pour avoir le même impact sur le signal qu'une certaine concentration de nitrate. Dans un cas où la sélectivité serait variable selon le domaine de concentration, un simple changement dans la pente pourrait être observé.



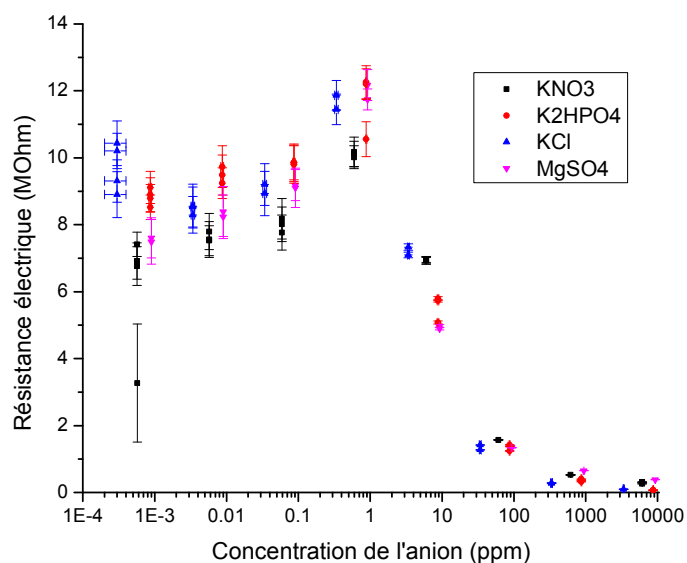
**Figure 4.4 :** Courbes de calibration d'un senseur électrochimique pour l'évaluation de sa sélectivité au chlorure, bromure, sulfate et phosphate.

Les résultats de cette étude de la sélectivité sont équivoques. Le senseur ne montre aucune sélectivité pour l'ensemble des anions utilisés. Le faible écart observé entre les courbes n'est rien de plus que la différence de



masse entre les différents anions, Cl<sup>-</sup> étant toujours la plus faible concentration tandis que SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> et HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> sont toujours les plus élevés. Ce résultat est surprenant lorsque l'on considère que la membrane sélectionné dans la littérature pour servir dans le senseur électrochimique a été prise d'entre les autres pour sa grande sélectivité qui avait réussi à surpasser l'aspect sélectif lié à la série spectrochimique. Ainsi, bien qu'une baisse de sélectivité fût possiblement attendue par le transfert d'une technologie à l'autre, elle est plutôt complètement perdue.

Pour étudier d'avantage le phénomène de sélectivité, un autre test a été fait à partir des déductions découlant des mesures d'impédances sur membrane décomposée. Comme la précédente étude a montré que la contribution de l'ionophore, molécule responsable de la sélectivité dans la membrane, était peut-être étouffée par la contribution du site ionique, il serait intéressant de voir la sélectivité de l'ionophore seul. Le deuxième test de sélectivité se fera donc sur le même senseur utilisé précédemment avec des solutions pures de différents sels. Encore une fois, les courbes de calibrations obtenus seront comparées les unes aux autres (figure 4.5).



**Figure 4.5 :** Courbes de calibration du senseur avec ionophore seul pour l'évaluation de la sélectivité au phosphate, au chlorure et au sulfate de magnésium.

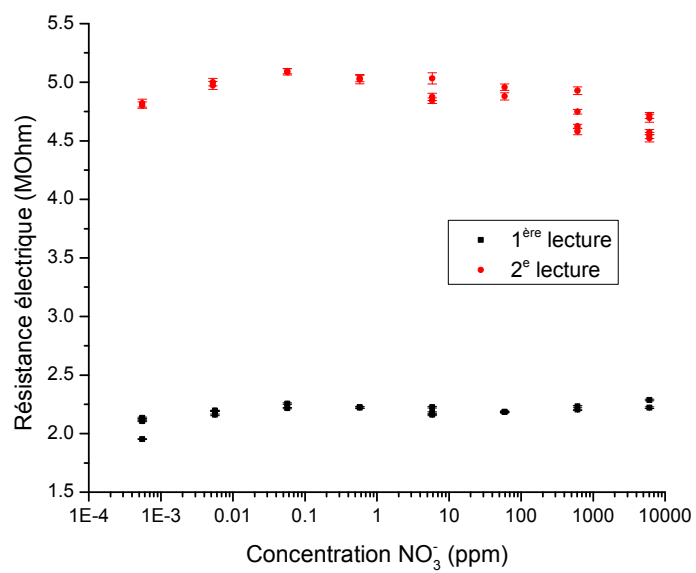
À la vue de ces résultats, il est possible de voir la différence de profil associée à la différente composition de la membrane, incluant le pic de résistance entre le plateau à faible concentration et le régime de réponse linéaire, ainsi que les incertitudes plus importantes à basse concentration. Il est aussi possible de voir que la réponse du senseur face aux changements de concentration des différents sels est presque identique. Le fait

que le manque complet de sélectivité se voit aussi dans cette situation qui a montré un caractère différent suggère que le problème ne vienne pas de la membrane elle-même. Pour le confirmer, il a été décidé au courant de cette étude de varier la nature du contre-ion pour une mesure, principalement dû à la mobilité ionique élevée du potassium qui aurait pu dominer la conductivité de la membrane. La série de mesure effectuée sur des solutions de  $MgSO_4$  a néanmoins donné le même problème de sélectivité que les autres solutions. À la fin de ces démarches d'évaluation de la sélectivité ainsi que sur celles effectuées de manière parallèle sur d'autres senseurs spécifiques à l'ion phosphate et à l'ion potassium qui ont donné des résultats similaires, il a été déterminé que la source du problème n'était pas la membrane sélective aux ions. Il reste donc la possibilité que le design du senseur soit mal adapté à une telle lecture ou encore que l'EIS ne soit pas une bonne avenue pour faire le dosage des ions.

### **4.3 Mesure en solutions pures avec une membrane épaisse**

Suite aux mesures de sélectivité infructueuse, une expérience brève a été pensée pour évaluer l'efficacité du design du premier prototype du senseur. En sachant que plusieurs mécanismes des électrodes potentiométriques sont des phénomènes de surface et que la diffusion des ions dans la membrane est relativement faible, un test sera fait sur un senseur possédant une membrane complète mais dont la structure sera altérée. Un senseur a été fabriqué de manière telle à ce que le bulbe de membrane soit beaucoup plus gros qu'à l'habitude. Comme il ne s'agissait initialement que d'un test qualitatif, l'appréciation visuelle d'une membrane lisse et homogène ayant au minimum la taille du support rigide de céramique devait suffire. L'idée derrière cette simple modification est de faire changer le ratio surface-volume de la membrane en plus de repousser l'interface membrane-solution de celle membrane-électrode. La courbe de calibration a donc été faite pour ce senseur afin de voir à quoi correspondrait son profil et est présentée à la figure 4.6.

Les résultats de cette étude mettent en évidence que la structure de la membrane peut avoir un impact majeur sur le signal électrique du senseur. La résistance de celui-ci reste non seulement stable malgré le changement de concentration. De plus, le changement de résistance associé au vieillissement de la membrane est beaucoup plus important que pour une membrane mince. Il est suggéré que cette différence confirmerait la faible pénétration des ions dans la membrane, plaçant l'impact des nitrates en solution sur la membrane à l'interface de celle-ci. D'un autre point de vue, il est estimé que l'augmentation du parcours à faire par le courant au travers de la membrane sélective, qui agit comme un isolant, font en sorte que peu importe l'augmentation de la conductivité à proximité de l'interface, le parcours se traçant directement entre les deux électrodes reste le plus favorable. Le vieillissement majeur de la membrane serait associé à une augmentation importante de la quantité de sites ioniques disponibles pour la libération de chlorure. Ces connaissances en soit restent encore une estimation liée à la modélisation proposé des mécanismes du senseur, mais les informations obtenus seront des bons outils pour la modélisation du senseur par spectroscopie d'impédance.



**Figure 4.6 :** Courbe de calibration du senseur avec membrane épaisse.



## Chapitre 5 : Electrochemical Impedance Sensors for Monitoring Trace Amounts of NO<sub>3</sub> in Selected Growing Media

Cet article a été publié en langue anglaise dans la revue *Sensors*. L'usage du point décimal est donc de rigueur.

Ghaffari, S.A.\*; Caron, W.-O.\*; Loubier, M.; Normandeau, C.-O.; Viens, J.; Lamhamedi, M.S.; Gosselin, B.; Messaddeq, Y. Electrochemical Impedance Sensors for Monitoring Trace Amounts of NO<sub>3</sub> in Selected Growing Media. *Sensors* **2015**, *15*(7), 17715-17727.

\* Ces auteurs ont contribué également à ce travail.



## 5.1 Résumé

Avec l'avènement des villes intelligentes et des mégadonnées, l'agriculture de précision permet de fournir l'information de senseurs dans des banques de données en ligne pour le suivi continu des cultures, l'optimisation de la production et pour la conservation de données. Cet article décrit un senseur abordable, compact et adaptable basé sur la spectroscopie d'impédance électrochimique pour le suivi de traces de  $\text{NO}_3^-$  dans des médias de croissances sélectionnés. Le senseur de nitrate peut être intégré aux plateformes microélectroniques conventionnelles pour performer le dosage des nitrates continuellement en étant connecté et sur une plage de concentration allant de 0,1 ppm à 100 ppm, avec un temps de réponse d'environ 1 minute et fournissant ses données dans une base pour la conservation et l'analyse. Cet article décrit la conceptualisation structurelle, la réponse d'impédance Nyquist, la mesure de sensibilité et de précision, ainsi que le test en sol du senseur de nitrate fait en pépinière forestière sous des normes certifiées ISO/CEI 17025.

## 5.2 Abstract

With the advent of smart cities and big data, precision agriculture allows the feeding of sensor data into online databases for continuous crop monitoring, production optimization, and data storage. This paper describes a low-cost, compact, and scalable nitrate sensor based on electrochemical impedance spectroscopy for monitoring trace amounts of  $\text{NO}_3^-$  in selected growing media. The nitrate sensor can be integrated to conventional microelectronics to perform online nitrate sensing continuously over a wide concentration range from 0.1 ppm to 100 ppm, with a response time of about 1 min, and feed data into a database for storage and analysis. The paper describes the structural design, the Nyquist impedance response, the measurement sensitivity and accuracy, and the field testing of the nitrate sensor performed within tree nursery settings under ISO/IEC 17025 certifications.

## 5.3 Introduction

The advent of smart cities allows sensor owners to register and connect their devices to feed data into an online database for storage, and to allow developers connect to the database and build their own applications [96]. Interest in smart cities is motivated by major challenges pertaining to sustainable growth, including the growth of urban infrastructure and rising urban populations, which, amongst other things, are putting pressures on food production, water supplies, and the environment. The need to reduce costs and resource consumption, to minimize fertilizer usage in the environment, and to optimize crop production worldwide have motivated the development of low-cost, online digital sensor technologies for monitoring the concentration of ionic nutrients in agriculture, notably nitrate, phosphate, and potassium [30]. Nowadays, the detection and identification of nutrients still rely on conventional sampling laboratory techniques, which are costly, laborious, and not always suitable for real-time monitoring in farm or large-

scale industry settings. Therefore, a research challenge in this field is focused on the need to develop rapid, reliable, specific, and sensitive methods to detect and monitor these nutrients cost-effectively [12, 13], while large scale analysis implies improved miniaturization, reduction of analysis time and cost, and multi-ion detection [26].

Precision agriculture (PA) is a farming management concept based on observing, measuring and responding to field variability in crops [3]. Crop variability typically has both a spatial and temporal component which makes data acquisition, computational treatments, and statistical analysis ubiquitous. The objective of precision agriculture research pertains to the ability of optimizing returns on inputs while preserving resources (water, fertilizer, *etc.*). The practice is enabled significantly by the development of digital sensor technologies arrayed across the field that communicate in real-time to a central management system the amount of phosphate, nitrate, or potassium in the soil or in other growing media. The system's ability to determine and locate in real-time the precise nutrient content allows for the creation of maps of the spatial/temporal variability of nutrient for specific crop management, which may be specific to open farm lands, tree nurseries, or greenhouse settings, *etc.* Measuring the spatial and temporal variables of crop using an array of nutrient sensors is key to defining smart strategies for efficient resource use and sustainable growth.

Many ion sensors or different methods have been developed in recent years to perform crop monitoring. Among these, Electrical Conductivity (EC) meters have been used extensively to measure soil salinity [7], however the lack of ion selectivity for this method makes it inadequate for the quantitative measurement of specific ions. In addition, EC measurement techniques such as Time Domain Reflectometry (TDR) and Frequency Domain Reflectometry (FDR) relate to the propagation of a voltage pulse and measurement of the reflected wave [11]; however, they are usually power hungry and processor intensive, which are sets of attributes inappropriate for low-cost sensors. Digital sensor technology based on electrical impedance spectroscopy (EIS) is becoming a powerful tool in precision agriculture because it involves a relatively simple electrical measurement that can readily be automated and whose results may often be correlated with many complex materials variables: from mass transport of fertilizers, rates of reactions with the growing medium, and local ion concentrations [97]. While EIS analysis has been used to perform tasks such as corrosion monitoring [16], fuel cell analysis [17], bio-sensing [18], mineral nutrient detection in plants [19, 20], breast cancer detection [21], and glucose determination [22], this paper describes a novel, low-cost, and portable nitrate sensor based on EIS for the determination of trace amounts of  $\text{NO}_3^-$  in selected growing media used in tree nurseries. The nitrate sensor can be integrated to conventional digital microelectronics or CMOS platforms to perform online nitrate sensing continuously, and feed data into a database for storage and analysis. This paper describes the structural design, the Nyquist impedance



response, the measurement accuracy, and the field testing of the EIS nitrate sensor performed within a tree nursery setting under the International Organization for Standardization (ISO) and the International Electro-technical Commission (IEC) certifications #17025.

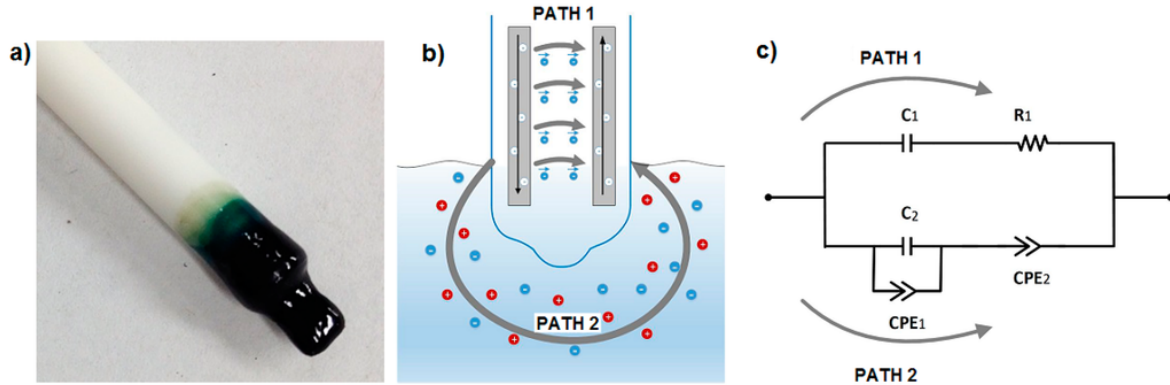
## 5.4 Chemistry of the EIS Sensor

### 5.4.1 EIS Nitrate Sensor Structure

The electrochemical nitrate sensor comprises a set of electrode wires surrounded by an ion selective polymer membrane, as shown in Figure 5.1a. The polymer membrane is inserted into the growing medium (preferably wet) and interacts locally with the medium under test. This sensor configuration provides two different electrical conduction paths, one within the polymer membrane and the other into the medium under test, depicted as paths 1 and 2 in Figure 5.1b, respectively. The equivalent electrical circuit of the sensor is described in Figure 5.1c and Section 5.5.4. The polymer membrane is composed of high molecular weight polyvinyl chloride (PVC—from Aldrich) and of a plasticizer bis(2-ethylhexyl) phthalate (BEHP—also from Aldrich). PVC-BEHP is an attractive scaffold for the development of low-cost, non-toxic, and chemically-stable sensors, and provides ease of fabrication and solubility in tetrahydrofuran (THF). Ion-selectivity is provided by adding two components to the polymer membrane: an ionophore and ionic sites. For the nitrate sensor, the ionophore consisted of tetramethyl cyclotetra-decanato-nickel(II) complex (NiTMTAA), and the ionic site consisted of trioctylmethylammonium chloride (TOMAC—from Aldrich). Both of these have been chosen according to the reversibility, selectivity ( $>4 \text{ pKpotNO}_3, \text{A}^-$ , where  $\text{A}^-$  stands for  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ , or  $\text{Cl}^-$ ) and efficiency reported in previous potentiometric studies [52]. All chemicals, except the synthesized ionophore, were reagent grade and used without further purification. Together, this polymer membrane composition can be dissolved into THF and molded into any desired shape prior to drying, which brings mechanical strength, environmental endurance, and abrasion resistance, and which defines a stable baseline of electrical conductivity to the system. The membrane exhibits low polarity in order to limit the entry of water and ions in the system. Also, the plasticizer reduces the glass transition temperature  $T_g$  of the polymer, and brings molecular mobility to the membrane; this property is necessary to enhance the speed of interaction with the medium under test.

The sensors were fabricated using a dip-coating process to cover the electrodes uniformly with the polymer membrane. The electrodes were made from copper wires (923UL-9 from Consolidated Electronic Wire and Cable), and inserted into a 5 mm-diameter 100 mm-long alumina rod comprising two parallel hollow cavities spaced by a gap of 0.6 mm. Alumina has been chosen for its dielectric, mechanical, and chemical strength properties. The copper wires protruded out of the alumina rod over a length of 5 mm along which the polymer membranes were coated. The dip-coating process consisted of immersing the

protruding copper wires into a THF-dissolved polymer solution of abovementioned composition, followed by a 24-h drying at room temperature in order to let the THF evaporate and the polymer membrane solidify. Successive dipping and drying were performed until all the electrodes were fully covered by a 1 mm-thick membrane.



**Figure 5.1** (a) Picture of the polyvinyl chloride-bis(2-ethylhexyl) phthalate (PVC-BEHP) electro-chemical nitrate sensor; (b) Schematics of the main electrical conduction paths, one within the polymer membrane and the other into the medium under test; and (c) Equivalent electrical circuit of the sensor.

#### 5.4.2 Medium under Test

Laboratory measurements were performed by immersing the PVC-BEHP electrochemical nitrate sensors in 10 mL of  $\text{KNO}_3$ -containing (Aldrich—selectophore grade) deionized water ( $18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ ) solutions set at  $20^\circ \text{C}$  room temperature, while making sure to avoid sensor contact with any glassware surface. The sensors were left immersed in the solution for about 5 min to provide enough time for interaction and equilibrium with the ions. Field test measurements were performed in a white spruce (*Picea glauca* (Moench) Voss) seedling tree nursery setting. The measurement method consisted of immersing the sensors in about 300 mL of sampled growing medium (peat-vermiculite 80/20% v/v, density of  $0.11 \text{ g/cm}^3$ ,  $\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$  3.8,  $\text{pH}_{\text{CaCl}_2}$  3.1, C.E.C. 106 meq/100 g,  $\text{N}_{\text{min}}$  53 mg/kg,  $\text{N}_{\text{NO}_3}$  6 mg/kg, P 13 mg/kg, K 20 mg/kg) mixed with water to reach saturation at about 92%wt of water content. The nitrate measurements obtained from the electrochemical sensors were compared with normalized colorimetric laboratory measurements, which consisted in sampling, centrifuging, and treating the growing medium using an ISO/IEC 17025-certified methodology described in Section 5.6.

## 5.5 Experimental Setup and Results

### 5.5.1 Measurement Setup

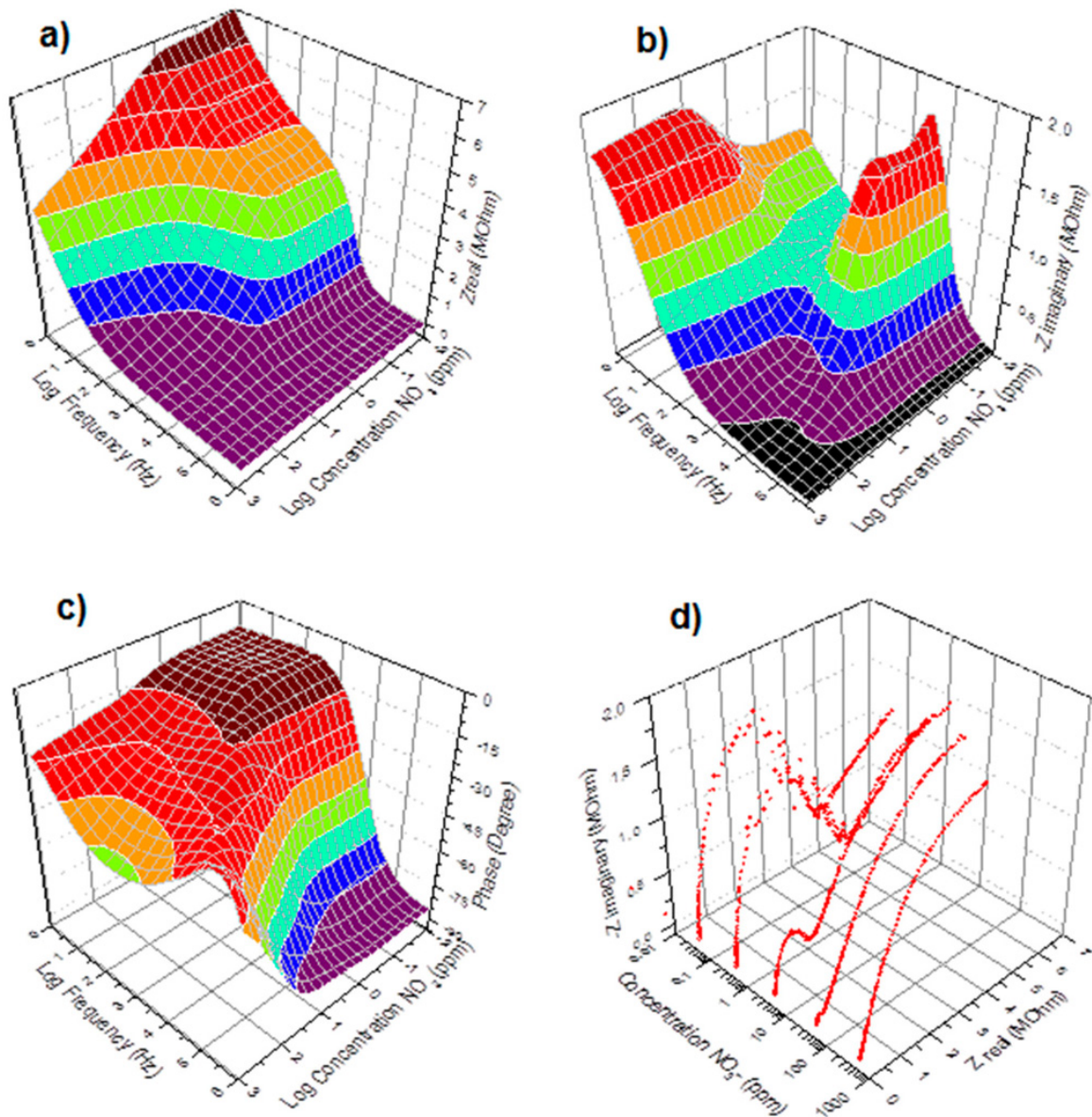
Impedance measurement and data collection for the PVC-BEHP electrochemical nitrate sensors were performed using a Solartron Impedance/Gain-phase Analyzer (model 1260A) through an AC frequency

range from 1 Hz to 1 MHz. The Solartron measurements exhibited less than 5% error in the Real part of impedance and less than 1.5% in the Imaginary part of impedance, in the AC frequency range from 1 Hz to 1 MHz, and in the nitrate concentration range from 0 ppm to 6000 ppm. The AC amplitude of the driving signal was set at 200 mV to provide as low-signal, linear regime, and high S/N ratio as possible to the impedance measurements; however, the sensor exhibited impedance non-linearity as further described in Section 5.5.3. The connection of the Solartron Impedance analyzer to the sensor followed standard procedures described in Section 6.5 of the Solartron 1260 [95]. All the probes used during the tests were coaxial cables and the accuracy of the measurements was  $\pm 1\%$  for the impedance magnitude and  $\pm 1$  degree for phase. The measured impedance referred to the real and imaginary parts of the electrical impedance of the immersed sensors:  $Z(\omega) = R(\omega) + jX(\omega)$ , where  $\omega = 2\pi f$ ,  $f$  is the AC frequency of the measurement in Hertz, and  $Z$  is the compounded sum of resistances  $R$  and reactances  $X$  of the immersed sensor. The modulus of impedance is given by  $\|Z(\omega)\| = \sqrt{R(\omega)^2 + X(\omega)^2}$  and the phase is given by  $\angle Z(\omega) = \tan^{-1}\left(\frac{X(\omega)}{R(\omega)}\right)$ . Studying the impedance spectra of the system through a wide range of AC

frequencies provides an objective and quantitative tool to assess medium variables such as nitrate ion concentration and water content, which may relate to specific elements of an equivalent circuit model for quick processing into useful data [97, 98].

### 5.5.2 Measurement Results

Figure 5.2 shows the impedance spectra results of the immersed PVC-BEHP electrochemical nitrate sensors through a wide range of nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) concentrations, under laboratory conditions using  $\text{KNO}_3$ -containing water solutions. Measurement stability was reached after  $\sim 1$  min immersion. These results show that the impedance spectrum of the PVC-BEHP sensor was strongly dependent on nitrate concentration throughout the range 0.01 ppm to 1000 ppm. The measured Nyquist profiles at the range of AC frequencies from 1 Hz to 1 MHz are indicative of a resistance-capacitance parallel circuit behavior that comprises phenomenological constant phase elements (CPE) as depicted in Figure 5.1c. A CPE is a component that models impedance elements exhibiting distributed materials properties, and has been proposed to explain the behavior of ionic charges in ionic conductors [100]. A conductivity dominated by the polymer membrane (Path 1) is key to obtaining selective nitrate sensor response; this membrane-related impedance was dominant at high frequencies and low  $\text{NO}_3^-$  concentrations, while the impedance of the medium (Path 2) became prominent at low frequencies and high ( $>100$  ppm)  $\text{NO}_3^-$  concentrations, which leads to a non-selective nitrate sensor response at these conditions.

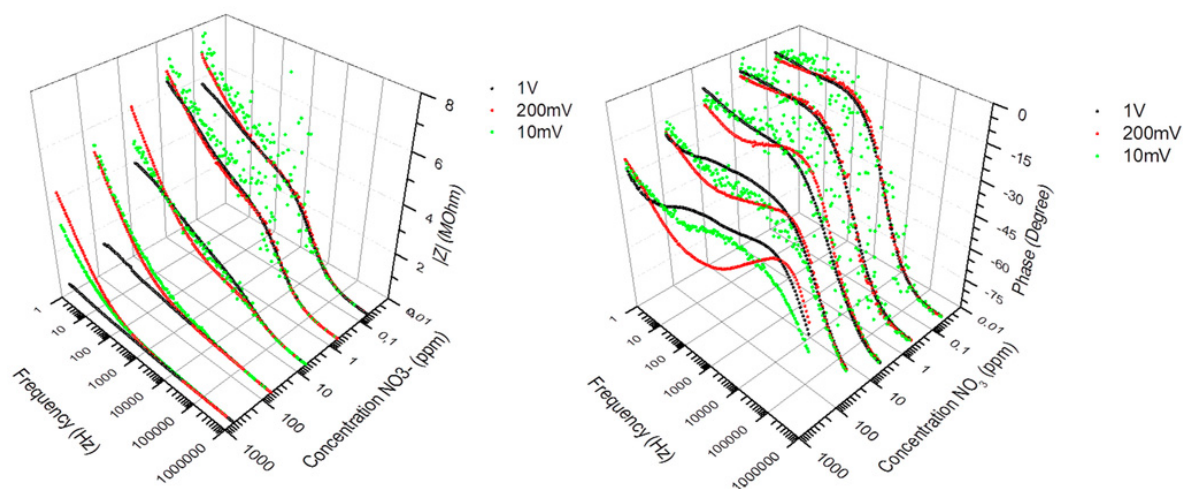


**Figure 5.2** Real (a), Imaginary (b), Phase (c), and Nyquist (d) impedance spectra of the immersed PVC-BEHP electrochemical nitrate sensors, at 200 mV AC amplitude, through a wide range of nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) concentrations using  $\text{KNO}_3$ -containing water solutions.

### 5.5.3 Measurement Non-Linearity

Electrochemical impedance spectroscopy involves the study of the variation of the impedance of an electrochemical system with the frequency of a small-amplitude AC perturbation. In practice, for the impedance measurement data to be reproducible, three main conditions have to be fulfilled. *Linearity*: the applied AC amplitude must be small enough so that the response of the system can be assumed to be linear, in first approximation, but still large enough to measure a response. Although highly reproducible under given conditions, the impedance spectra of the nitrate sensors did not fulfill the linearity

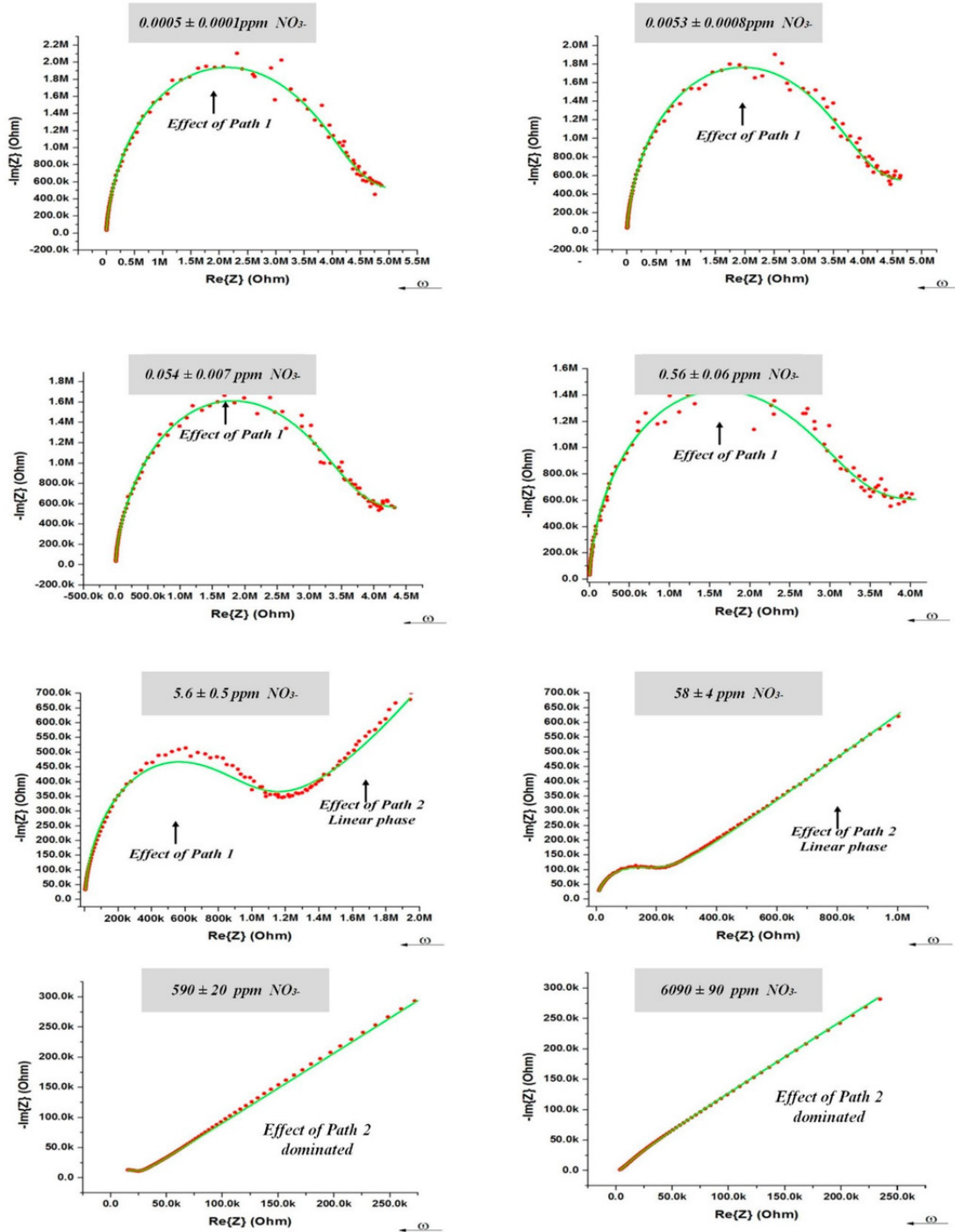
assumption; Figure 5.3 shows that the recorded spectra exhibited a dependency with respect to the applied AC amplitude. The sensor had to be calibrated at a specific AC amplitude value, which was set at 200 mV with 0 V bias, as lower amplitudes led to poor S/N response and poor measurement accuracy. *Stability*: the overall state of the system must not change significantly during the acquisition of the data. This condition was fulfilled as the sensor exhibited a level of impedance stability of about  $\pm 5\%$  during field tests in tree nursery settings, over a period of 1 month in air-slit containers of 25 square-shaped cavities ( $320 \text{ cm}^3/\text{cavity}$ , IPL 25-320, IPL Inc., Quebec, QC, Canada) filled with moistened 3:1 (v/v) peat-vermiculite. Over this period of time, the sensors were subjected to temperature fluctuations ranging from  $-2 \text{ }^\circ\text{C}$  to  $+29 \text{ }^\circ\text{C}$  in air,  $+1 \text{ }^\circ\text{C}$  to  $+23 \text{ }^\circ\text{C}$  inside the medium (obtained from thermistors), and to a cumulative irrigation of 65 mm (obtained from a rain gauge model No. TE525M, Texas Instruments). *Causality*: The measured AC response of the system must be directly correlated to the applied AC stimulus. This correlation implies selectivity to nitrate. Nitrate selectivity was not fulfilled when immersing the sensors in medium containing similar concentrations of  $\text{Cl}^-$  ions. As previously shown in Figure 5.2, the impedance of the medium (Path 2) becomes prominent at low frequencies and high ( $>100 \text{ ppm}$ )  $\text{NO}_3^-$  concentrations, which leads to a non-selective response of the sensors at these conditions. In order to alleviate ion cross-detection and achieve good measurement accuracies, this study used simple and controlled growing media such as substrates of peat moss and vermiculite, which relaxed selectivity requirements.



**Figure 5.3** Impedance spectra (Modulus and Phase) of the PVC-BEHP electro-chemical nitrate sensors, at 10 mV (green dots), 200 mV (red dots), and 1 V (black dots) AC amplitudes, showing the measurement dependency with respect to the applied AC amplitude.

#### 5.5.4 Equivalent Electrical Circuit

Equivalent electrical circuits greatly aid in the process of fitting observed impedance data for elements with distributed properties. The equivalent electrical circuit model that represented the AC electrical conductivity of the PVC-BEHP electrochemical sensor is illustrated in Figure 5.1c. It is worth mentioning that both the PVC (path 1) and medium (path 2) are predominantly dielectric materials in nature and therefore exhibited poor DC electrical conductivities. Their electrical properties relate to various delocalized electrical carrier conduction mechanisms at play in non-crystalline materials such as short-range carrier mobility, defect hopping/trapping, and carrier diffusion, which manifest themselves negligibly in DC but may become significant and easily measured at AC frequencies in the kHz and MHz range [97, 100, 101]. In this context, the equivalent electrical circuit model contained both resistance and reactance (capacitive) elements which governed carrier mobility over a broad driving frequency range in AC. Specifically, the electrical circuit model assigned resistances and capacitances related to the nitrate-selective polymer membrane (Path 1:  $R_1$ ,  $C_1$ ) and to the non-selective medium under test (Path 2:  $C_2$ - $CPE_1$ - $CPE_2$ ) which comprised phenomenological constant phase elements (CPE). This electrical model could be applied accurately for all nitrate concentrations investigated in the present study, as demonstrated in Figure 5.4. The curve fitting had been done using an EIS analyzer software [101]. Overall, it can be seen that the electrical impedance of the polymer membrane was dominant at high AC frequencies and low nitrate concentrations, whereas the electrical impedance of the medium became dominant at low AC frequencies and high nitrate concentrations. As expected, the polymer membrane exhibited a negative phase in the impedance spectra indicative of a resistance-capacitance material response (Path 1), which, however, became strongly attenuated by the non-selective impedance of the medium at  $NO_3^-$  concentrations higher than 100 ppm (Path 2).



**Figure 5.4** (Red dots) Nyquist response at 200 mV of the PVC-BEHP electro-chemical nitrate sensor through wide a range of nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) concentrations. (Green lines) Fitting results using the equivalent electrical circuit model illustrated in Figure 5.1c.

### 5.5.5 Sensor Circuit Miniaturization

An AD5933 microelectronics platform from Analog Devices was used to obtain a low-cost (~\$30), compact (~8 × 8 cm<sup>2</sup>), and portable (~10 g) digital sensor technology that could be deployed, connected,

and multiplexed at large scale during field tests. The AD5933 platform is a precision impedance converter circuit board that uses an auto-balancing method [103, 104] for impedance measurements up to 10 MΩ, and that combines an AC frequency generator from 5 kHz to 100 kHz, with a 12-bit analog-to-digital converter (ADC). The frequency generator allows an external complex impedance (*i.e.*, sensor) to be excited with a known frequency. The impedance response signal was sampled by the ADC, a discrete Fourier transform (DFT) was processed by the on-board engine, and the results were sent to an online computer for data storage and analysis. The AD5933 employs a trans-impedance amplifier for amplifying the current and then uses the 1024 point on-chip DFT algorithm for separating the real and imaginary parts of impedance. After digitalizing with the ADC [105], a discrete-time impedance wave,  $Z[n]$  ( $n = 0, 1, 2, \dots, N-1$ ), is obtained by DFT:

$$F\{z[k]\} = Z(e^{j\omega}) = \sum_{k=0}^{N-1} z[k] \cdot e^{\frac{-j2\pi kn}{N}} = \sum_{n=0}^{N-1} z[k] \cos\left(\frac{-j2\pi kn}{N}\right) - j \sum_{n=0}^{N-1} z[k] \sin\left(\frac{-j2\pi kn}{N}\right) = Z_i - jZ_q$$

where  $Z_i$  and  $Z_q$  indicate respectively the real and imaginary parts of impedance returned by the DFT, both of which could be calibrated with respect to  $\text{NO}_3$  concentration in the medium at a specific AC amplitude, with best calibration resolution usually obtained when using the impedance modulus. To our knowledge, this is the first time the AD5933 device was used along with a chemical sensor for environmental analysis; for sake of carefulness this warranted comparison with other known and well calibrated impedance meters. As shown in Figure 5.5, the AD5933 impedance measurements have been compared with the Solartron impedance analyzer under the same laboratory conditions as described previously, but under a range of frequency limited from 5 kHz to 100 kHz according to restrictions determined by the oscillator module within the AD5933 device [105]. The AD5933 device exhibited higher measurement errors when operating close to upper or lower frequency limits of 5 kHz and 100 kHz, or far from the 200 kΩ internal calibration resistance. Overall, good agreement in impedance measurements was obtained between the AD5933 and Solartron, to within a  $\pm 10\%$  comparative error level, through wide a range of nitrate concentrations. The comparative errors were about  $\pm 2\%$  at 200 mV AC amplitude between 0.1 ppm and 100 ppm nitrate, which was the useful measurement range of field tests in tree nursery settings.



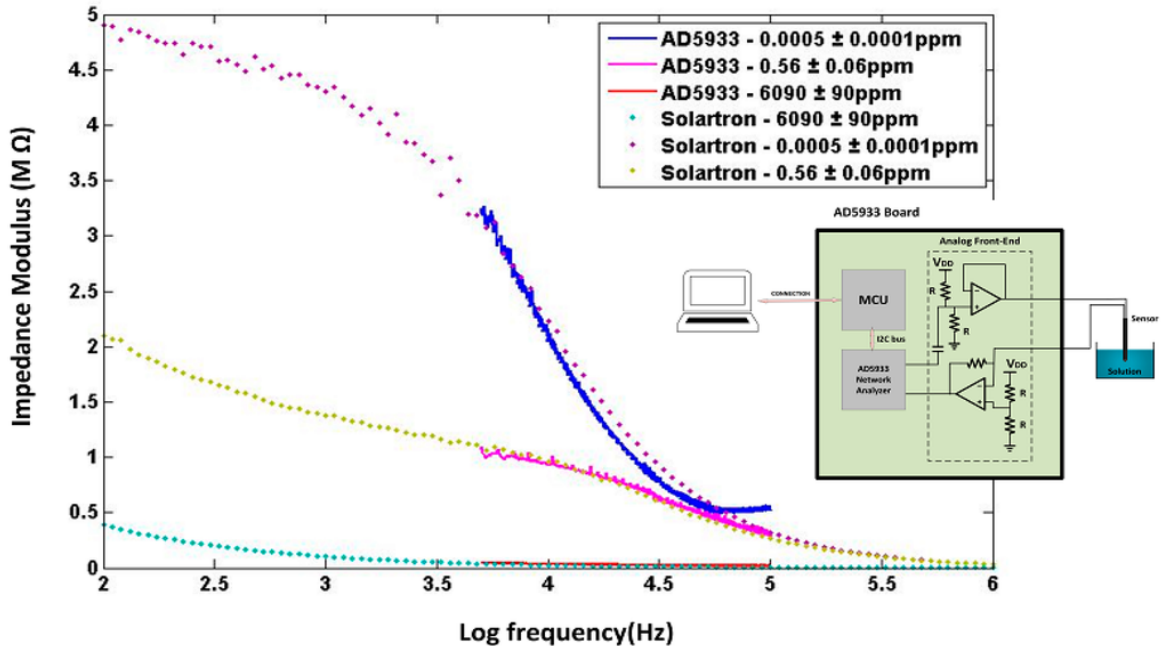
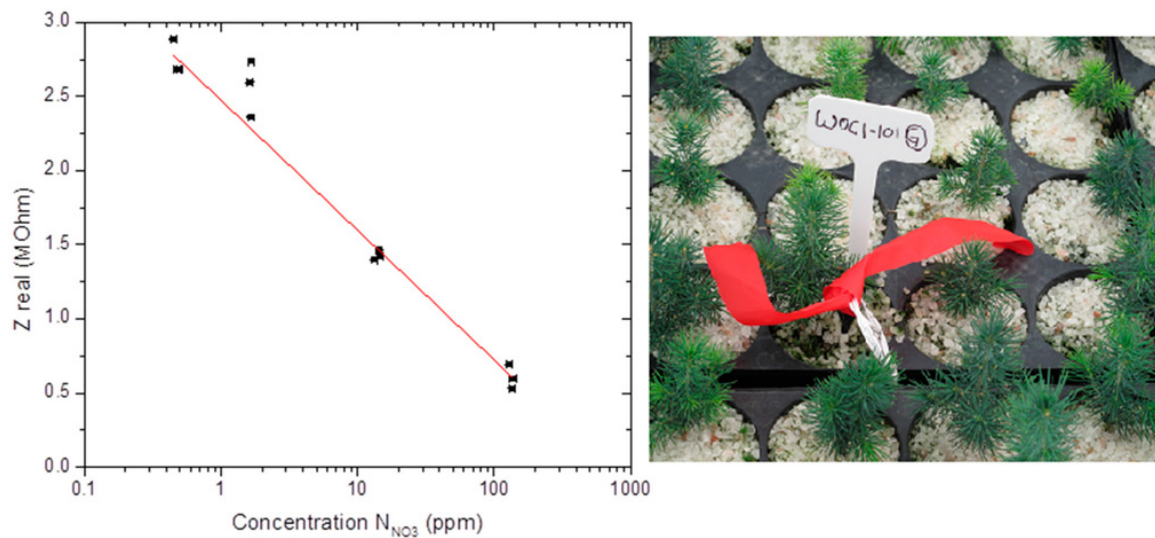


Figure 5.5 Comparative sensor impedance measurements made between the AD5933 microelectronics platform and the Solartron Impedance Analyzer.

## 5.6 Field Testing in Tree Nursery Under ISO/IEC 17025 Certifications

Ppm-level measurement sensitivity and accuracy, environmental reliability and non-toxicity, and compatibility to ISO certifications are attributes sought for defining smart strategies for efficient and sustainable management of farm lands, tree nurseries, or greenhouses. For the nitrate sensors under study, field test measurements were performed in growing medium selected from a tree nursery of white spruce (*Picea glauca* [Moench] Voss) species of evergreen coniferous [9,106], shown in Figure 5.6. The sensors were inserted into the growing medium and could be used and calibrated under different nursery conditions, such as (1) *in situ* under low irrigation conditions (~50%wt water); (2) *in situ* after irrigation (~75%wt water); or (3) after sampling under water saturation (~90%wt water). For this study, an ISO/IEC 17025-certified methodology was adopted [107]. The measurement method consisted of immersing the sensors in about 300 mL of sampled growing medium (peat-vermiculite 80%/20% v/v, density of 0.11 g/cm<sup>3</sup>, pH<sub>H<sub>2</sub>O</sub> 3.8, pH<sub>CaCl<sub>2</sub></sub> 3.1) in a 600 mL beaker; this growing medium was then mixed with deionized water to reach saturation at about 92%wt of water content. The nitrate measurements obtained from the electrochemical sensor were made at that point, and later compared with normalized UV-V is colorimetric laboratory measurements taken of the same growing medium. The colorimetric measurements consisted of filtrating and centrifuging three samples of growing media, passing the aqueous centrifuged filtrate through a reductive column of copper-coated cadmium, and mixing with sulfanilamide and N-(1-

naphtyl)ethylenediamine dihydrochlorid (NED). The reduction changed nitrate to nitrite which reacted with sulfanilamide, forming a diazonium compound that gave purple coloration with NED, yielding a specific optical absorption at 520 nm calibrated to provide a precise nitrate concentration. Figure 5.6 shows the sensor results (made after ~1 min measurement time in the sampled peat-vermiculite medium) compared to the UV-Vis colorimetric laboratory measurements of the filtrates (made after ~1 h of filtration, centrifugation, and reduction processes). The sensor results are indicative of ppm-level measurement sensitivity and accuracy for nitrate detection, with much improved ease, versatility, and economy as compared to conventional sampling laboratory techniques. The real part of the measured sensor impedance provided an accurate correlation with ISO/IEC 17025 certified measurements, in the tested range from 0.4 ppm to 130 ppm of  $\text{NO}_3^-$  concentration, to within a measurement accuracy of about  $\pm 1$  ppm (95% confidence level) in the range 1–10 ppm, and about  $\pm 10$  ppm in the range 50–100 ppm.



**Figure 5.6** Field test results performed in growing medium selected from a white spruce tree nursery, showing the real part of the measured sensor impedance (in  $\text{M}\Omega$ ) at 1 kHz AC frequency compared against the ISO/IEC 17025-certified colorimetric  $\text{NO}_3^-$  concentration measurements.

## 5.7 Conclusions

With the advent of smart cities, precision agriculture allows the feeding of sensor data into online databases for continuous crop monitoring, production optimization, cost reduction, and data storage. This paper described a low-cost, compact, and scalable nitrate sensor based on electrochemical impedance spectroscopy for the determination of trace amounts of  $\text{NO}_3^-$  in selected growing media. The nitrate sensor can be integrated to conventional microelectronics or CMOS platforms to perform online nitrate sensing continuously over a wide concentration range from 0.1 ppm to 100 ppm, with a response time of about 1 min, and feed data into a database for storage and analysis. The paper described the structural design

and microelectronics scaling, the ppm-level measurement sensitivity and accuracy, and the reliable field testing of the nitrate sensors performed within a tree nursery setting under ISO/IEC 17025 certifications, which were attributes sought for such sensors in defining smart strategies for efficient and sustainable management of farm lands, tree nurseries, or greenhouses.

### 5.7.1 Acknowledgments

The authors would like to thank the fruitful contributions of Canada's Excellence Research Chair in Photonics Innovations for the funding of this research ([www.cercp.ca](http://www.cercp.ca)), and also to the staff of Laboratoire de chimie organique et inorganique ISO/IEC 17025 (Direction de la recherche forestière, ministère des Forêts et de la Faune).



## **Chapitre 6 : Practical application of electrochemical nitrate sensor under laboratory and forest nursery conditions**

Cet article a été soumis en langue anglaise à la revue *Sensors* le 19 avril 2016. L'usage du point décimal est donc de rigueur.

Caron, W.-O.; Lamhamedi, M.S.; Viens, J.; Messaddeq, Y. Practical application of electrochemical nitrate sensor under laboratory and forest nursery conditions. *Sensors* **2016**, en soumission.



## 6.1 Résumé

La réduction du lessivage des nitrates pour permettre une meilleure prévention de la contamination de la nappe phréatique est un enjeu mondial. Le développement de nouvelles technologies pour un dosage plus précis des nitrates faciliterait l'optimisation des programmes de fertilisations. Cet article présente la mise en application pratique d'un nouveau capteur électrochimique conçu pour la quantification *in situ* des nitrates. À notre connaissance, cet article présente la première utilisation de la spectroscopie d'impédance électrochimique pour déterminer la concentration en nitrates d'un substrat de croissance en conditions de pépinière forestière. Par l'utilisation de mesure d'impédance, le capteur a été testé pour ses capacités analytiques en laboratoire en comparaison à une méthode colorimétrique certifiée pour le dosage des nitrates et pour sa stabilité en conditions environnementales de pépinière forestière. Le capteur développé a démontré qu'il était utilisable en substrats de croissance saturé en eau en montrant une bonne corrélation avec les méthodes certifiées, ce même dans des substrats échantillonnés au courant d'un programme saisonnier de fertilisation multi-ionique. Cet article présente aussi la stabilité d'un capteur exposé pendant 1 mois aux variables environnementales des conditions de pépinière forestière.

## 6.2 Abstract

The reduction of nitrate leaching to ensure greater protection of groundwater quality has become a global issue. The development of new technologies for more accurate dosing of nitrates helps optimize fertilization programs. This paper presents the practical application of a newly developed electrochemical sensor designed for *in situ* quantification of nitrate. To our knowledge, this paper is the first to report the use of electrochemical impedance to determine nitrate concentrations in growing media under forest nursery conditions. Using impedance measurements, the sensor has been tested in laboratory and compared to colorimetric measurements of the nitrate. The developed sensor has been used in water-saturated growing medium and showed good correlation to certified methods, even in samples obtained over a multi-ion fertilisation season. We also observed stability of the sensor after exposure of one month to the real environmental conditions of the forest nursery.

## 6.3 Introduction

The introduction of technology in areas like forestry, agriculture and horticulture allows producers to collect data to control and optimize their crop management [108]. Interest in tree nursery is motivated by major challenges pertaining to sustainable growth. This includes the growth of urban infrastructure and rising urban populations, which, amongst other things, are putting pressure on production and compromising efficiency in terms of agronomy, economy and environment. The need to reduce costs and resource consumption to minimize fertilizer usage in the environment and to optimize plant production worldwide has motivated the

development of low-cost, online, digital sensor technologies for monitoring the concentration of ionic nutrients in growth and groundwater systems, notably nitrate, phosphate, and potassium [32]. For example, current environmental regulations in different countries do not permit groundwater nitrogen levels to exceed 10 mg (N-NO<sub>3</sub> + N-NO<sub>2</sub>) L<sup>-1</sup> [5, 6]. According to the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), the world consumption of mineral fertilizer should exceed 200 500 000 tonnes by 2018, representing a yearly growth of 1.8% since 2015. The FAO report states a similar increase for nitrogen-based fertilizer with an annual increase of 1.4% for the same time period [2].

Nowadays, the detection and identification of nutrients still rely on conventional sampling laboratory techniques, which are costly, laborious, and not always suitable for real-time monitoring in farm or large-scale industry settings. Therefore, a research challenge in this field is focused on the need to develop rapid, reliable, specific, and sensitive methods to detect and monitor these nutrients cost-effectively [12,13], while large scale analysis implies improved miniaturization, reduction of analysis time and cost, and multi-ion detection [26].

These needs also apply to precision agriculture (PA), a farming management concept based on observing, measuring and responding to field variability in crops [3]. Crops variability typically has both spatial and temporal components which make data acquisition, processing and statistical analysis ubiquitous. To answer the requirements of such application, a new technology must have a low-cost of production as well as application, and be able to do real-time selective quantification of nutrients. One of the most important spatiotemporal components in PA is the leaching of nitrate which is a global challenge for all previously stated objectives. This variability had already been quantified for forest nursery productions [8] proving the importance of such an array of sensors as the key to enable better fertilization management. In regards to the development of a new technology for these applications, tree nurseries proved to be a good testing ground as it provided great control and knowledge of many environmental and physicochemical variables.

Many ion sensors or different methods have been developed in recent years to perform crop monitoring. Among these, Electrical Conductivity (EC) meters have been used extensively to measure soil salinity [7]. However the lack of ion selectivity for this method makes it inadequate for the quantitative measurement of specific ions. In addition, EC measurement techniques such as Time Domain Reflectometry (TDR) [8, 9, 10] and Frequency Domain Reflectometry (FDR) relate to the propagation of a voltage pulse and measurement of the reflected wave [11]. However, they are usually power hungry and processor intensive, which are sets of attributes inappropriate for low-cost sensors. Digital sensor technology based on electrical impedance spectroscopy (EIS) is becoming a powerful tool in precision agriculture because it involves a relatively simple electrical measurement that can readily be automated and whose results may often be correlated with many complex materials variables: from mass transport of fertilizers, rates of reactions with the growing medium and



local ion concentrations [97]. While EIS analysis has been used to perform tasks such as corrosion monitoring [16], fuel cell analysis [17], bio-sensing [18], mineral nutrient detection in plants [19, 20], breast cancer detection [21], and glucose determination [22]. This paper describes the practical application of a novel, low-cost, and portable nitrate sensor based on EIS for the determination of trace amounts of  $\text{NO}_3^-$  in selected growing media used in forest nurseries. The nitrate sensor can be integrated to conventional digital microelectronics or complementary metal-oxide-semiconductor (CMOS) platforms to perform online continuous nitrate sensing, and feed data into a database for storage and analysis. To our knowledge, this paper is the first to report the use of electrochemical impedance to determine nitrate concentrations in growing media under field conditions. First, we will describe the structural design and the impedance measurement through a simplified RC system for solutions and growing media. Then, we will compare nitrates concentration determined by the electrochemical sensors and by colorimetry for a growing medium without the presence of forest seedlings. Our aim is to determine the reliability of nitrate sensors inside a growing medium that has been fertilized with all mineral nutrients, and this over a whole first growth season of white spruce (*Picea glauca* [Moench] Voss) seedlings in a forest nursery. We will confirm the stability of the sensors during one month when they were submitted to natural environmental variables in forest nursery. All measurements are performed in compliance with the International Organization for Standardization (ISO) and the International Electro-technical Commission (IEC) certifications #17025.

## **6.4 Materials and Methods**

### **6.4.1 Electrochemical sensors and impedance measurements**

The details of electrochemical sensors have been previously reported [109]. The sensors produced can be used on platform that allows the measurement of complex impedance [110]. The impedance of the sensors has been obtained using an LCR-meter SR720 by Stanford Research. This apparatus allowed an interesting range of AC current frequency (100 Hz, 120 Hz, 1 kHz, 10 kHz and 100 kHz) and voltage (0.1 V, 0.25 V and 1.0 V) for the use of electrochemical sensors [111]. In this study, the reading was done with an AC current of 1 V and a frequency of 1 kHz. Even though the equivalent circuit of the sensor is known, the LCR-meter only enables to fit the impedance to simple RLC circuits. The results were extracted via the RC circuit, this system alleviates the usage of complex EIS while still extracting the real part in the electrical resistance and the imaginary part in the capacitance of the complex impedance. As it had brought more information and a more linear response to the  $\text{NO}_3^-$  concentration variations, only the electrochemical resistance values will be treated in this paper, the capacitance only showing important changes at high concentrations.

## 6.4.2 Growth medium selection and nitrate measurements

As a first step to evaluate the viability of the electrochemical sensors for applications in tree nurseries, they were used in comparison to certified measurements done on growing medium without the presence of white spruce seedlings. For this experiment, one medium was chosen for being the most used in the domain [32]. This substrate was a mix of peat-moss and vermiculite (80% V/V ratio, 0.11 g/cm<sup>3</sup>) which is used as a potting medium. The physicochemical properties of the two components and the mixture were characterized as shown in Table 6.1.

**Table 6.1:** Physicochemical parameters about selected potting medium and its components. The data were obtained under analysis at a ISO-17025 certified laboratory. They are the average of three samples of each type.

Parameter	Peat-moss	Vermiculite	Potting medium
pH – H <sub>2</sub> O	4.27	6.55	3.80
pH – CaCl <sub>2</sub>	2.85	4.81	3.10
Electrical Conductivity μS/cm	68.1	10.9	173
N – NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/Kg	41	< 1	40
N – NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/Kg	2	< 1	6
P mg/Kg	2	< 1	13
K mg/Kg	11	4	20
Ca mg/Kg	13	2	29
Mg mg/Kg	5	3	45
Humidity – Sat. %	91.5	79.9	88.15

Using this medium, certified analysis was conducted in laboratory using pure KNO<sub>3</sub> solutions as an extracting agent to modify the nitrate concentration. By integrating the impedance measurement in the normalized method, it was possible to evaluate the electrochemical response of the sensor in relation to the concentration obtained by colorimetry. This protocol can be divided in three parts: sample preparation, water content quantification and colorimetric nitrate quantification. The goal of this procedure was to extract ionic content of a substrate into a water solution. Each sample was treated the same way three times.

Initially, this extraction was obtained by saturation of a partially dry sample using deionized water (DIW). When changing DIW by different water solutions containing nitrate, it was possible to change the nitrate content of

those water-saturated samples. Those solutions were prepared in laboratory with DIW ( $18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ ) and  $\text{KNO}_3$ -salt (Aldrich—selectophore grade). As the capacity exchange of the medium might change its concentration, the nitrate content presented in the paper will be the one obtained by the colorimetric measurement. Once saturated, the substrate was given time to interact with the solution,  $90 \pm 5$  minutes, before being filtrated on Buchner using a whatman #4 filter. Just before this step, the sensor was put inside the substrate to do impedance measurement. Each measurement of the sensor was performed three times, allowing 120 seconds of conditioning time between each reading.

Once part of the sample filtrated, the filtrate was analyzed by the electrochemical sensor again. These measurements followed the same protocol of three impedance readings with the same conditioning time. Then the filtrate was stored in a refrigerator until colorimetric analysis.

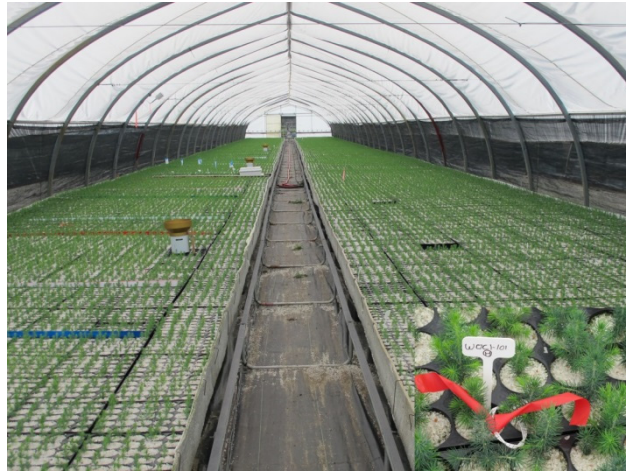
To define the water content of the saturated sample, a small quantity of it, precisely about 45 g, was dried in a stove at  $110 \text{ }^\circ\text{C}$  overnight. The gravimetric loss of the sample represented the water content.

In a period of less than 48 hours following the extraction, the filtrate must be analyzed through colorimetry. The colorimetric measurements consisted of centrifuging the filtra, passing it through a reductive column of copper-coated cadmium, and mixing it with sulfanilamide and N-(1-naphtyl) ethylenediamine dihydrochlorid (NED). The reduction reaction of nitrate to nitrite which reacted with sulfanilamide, forming a diazonium compound that gave a purple coloration with NED, yielding a specific optical absorption at 520 nm calibrated to provide a precise nitrate concentration.

#### 6.4.3 Stability of the sensor in forest nursery

Three previously calibrated sensors were inserted in cavities of three randomly selected containers (model *IPL* 25-310, Saint-Damien, Québec, Canada; 25 cavities,  $310 \text{ cm}^3/\text{cavity}$ ) in a production of white spruce. The cavities were filled with a moist, peat-vermiculite based substrate adjusted to a bulk density of  $0.10 \text{ g/cm}^3$ . The cavities of all containers were covered with silica. The containers were installed in a standard production tunnel (Figure 6.1) at Grandes-Piles (Latitude  $46^\circ 43' 56''$ ; Long.  $72^\circ 42' 06''$ ), a government forest nursery located in the province of Québec.

These three sensors were subjected to a series of different environmental conditions for one month (from September 16 to October 15, 2014). The functioning and stability of the sensors were evaluated by comparing the calibration curves obtained before and after exposure of the sensors to different environmental variables.



**Figure 6.1:** Production of white spruce seedlings in a standard production tunnel at Grandes-Piles forest nursery (Québec, Canada). Note in the corner at the bottom right the insertion of a sensor into a cavity of 25-310 containers in the presence of a white spruce seedling.

A data acquisition system (model CR10X, Campbell Scientific, Edmonton, Alberta, Canada) was used to record different environmental variables inside and outside the tunnel. Temperatures in the growing medium surrounding the roots and at the substrate surface were continuously monitored (soil temperature probe model 107B, Campbell Scientific, Edmonton, Alberta, Canada) under unheated tunnel conditions. Air temperature and relative air humidity inside the tunnel at 2.0 m above the ground surface were measured with a Vaisala RH and Temperature Probe (model HMP35C, Campbell Scientific, Edmonton, Alberta, Canada). Three rain gauges (Model TE525M, Campbell Scientific, Edmonton, Alberta, Canada) were used to monitor the quantity of water applied to plants during fertilization and irrigation. Light intensity was also measured continuously (model quantum sensor, Campbell Scientific, Edmonton, Alberta, Canada).

Several details regarding the production of white spruce seedlings related to irrigation, fertilization and different cultivation techniques are described in detail in previous publications [8, 9].

White spruce seedlings were irrigated and fertilised using a mechanized boom (Aquaboom, Industrie Harnois, Saint-Thomas-de-Joliette, Québec) in order to eliminate the spatial variability effects of substrate water content [8]. The coefficient of uniformity of the boom is between 95 and 98%. The substrate water content was adjusted in accordance with seedling phenology (growing stage) during the first growing season (1+0), then maintained between 40 and 45% (V/V) [8, 9]. The fertilisation regime was adjusted bi-weekly with the aid of *PLANTEC* software [112]. At the end of the first growing season (1+0), each seedling had received 47.28 mg of N (24.86 mg N-NH<sub>4</sub>, 21.22 mg N-NO<sub>3</sub>, 1.19 mg N-Urea), 10.64 mg of P, 15.19 mg of K and 0.09 mg of Mg as well as micronutrients (Mn, Cu, Fe and B). Fertilisers were applied in accordance with the growing stage of the seedlings between June 9 and September 29, 2014.

#### 6.4.4 Comparison of determination of nitrates by the sensor and the certified laboratory methods during the first growing season of white spruce seedlings in forest nursery

During the growing season, every two weeks, samples were collected and both seedling tissue and substrate were analyzed to determine their nutritional status. For each week, seedling needs for macronutrients and micronutrients were calculated depending on nutrient concentrations and the growth of white spruce seedlings according to Plantec software [112].

For this experiment and for determining the fertility of growth substrate in forest nursery including nitrates, only five sampling dates were selected (August 11, 8 and 22 September and October 27, 2014). For each sampling date, five containers were randomly selected and gently extracted, for a total of 100 seedlings/date. Substrate fertility (N-NO<sub>3</sub>, N-NH<sub>4</sub>, N<sub>mineral</sub>, P, K, Ca, and Mg), pH(H<sub>2</sub>O) and EC were determined on one composite sample from each container (20 root plugs/composite sample) on each sampling date. The same experimental procedure is performed on these samples.

Those samples had been taken from the same type of containers as those used in environmental stability tests and had been sampled every two weeks over the summer. Table 6.2 presents the sampling dates and the physicochemical properties obtained at reception in the certified laboratory. Between this analysis and the one taken with the sensors, samples had been kept refrigerated.

This information shows the variability of the ionic content of the growing medium over more than two months of production. Also, even if this information was not quantified, the presence of bacterial organisms might have had an impact on the sensor. By using the same protocol of analysis detailed previously for the laboratory use of sensors into the certified method of nitrate colorimetric measurement, the effectiveness of the impedance measurement will be evaluated. Once again, the results of the sensors will be compared to the ones obtained using colorimetry.

**Table 6.2:** Physicochemical parameters about sampled growth medium identified by sampling period. The data were obtained under analysis at a ISO-17025 certified laboratory.

\*Those sample has been kept refrigerated below 0 °C.

Parameter	*14-08-11	*14-09-08	14-09-22	14-10-06	14-10-27
pH – H <sub>2</sub> O	4.27	4.39	4.38	4.45	5.05
Conductivity µS/cm	219	211	171	147	21.4
N – NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> mg/Kg	88	71	44	38	7
N – NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> +NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mg/Kg	150	187	130	123	2
P mg/Kg	34	42	61	56	13
K mg/Kg	61	66	47	37	10
Ca mg/Kg	37	41	35	23	10
Mg mg/Kg	94	107	90	235	13
Mn mg/Kg	1	1	< 1	< 1	< 1
Cu mg/Kg	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Zn mg/Kg	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Al mg/Kg	4	5	5	3	6
Fe mg/Kg	5	7	8	7	7
Mo mg/Kg	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
Na mg/Kg	25	32	31	30	12
B mg/Kg	1	1	1	3	< 1
S mg/Kg	78	46	40	26	9
Hum. – Sat. %	91.54	91.78	91.46	91.76	92.16

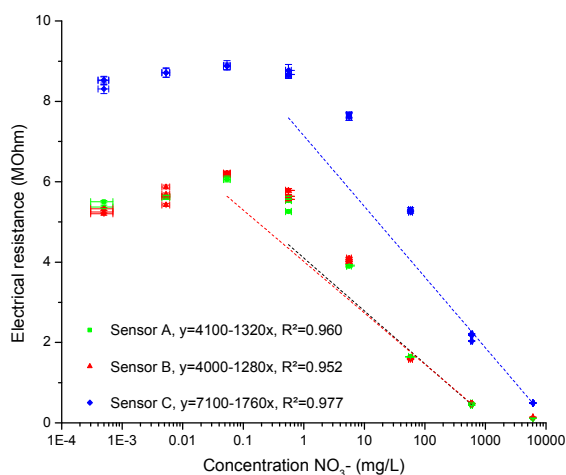
## 6.5 Results

### 6.5.1 Calibration of electrochemical nitrate sensors in solutions with LCR-meter

Three electrochemical sensors were prepared from the same nitrate selective membrane solution composed of 60%, 30%, 7% and 3% M/M of respectively PVC, BEHP, Ni(II)TMTAA and TOMAC. 300 mg of membrane was solubilised in 3 mL of THF prior to the dip-coating process.

After drying, each sensor was calibrated using a  $\text{KNO}_3$  solution covering a large selection of concentrations (10<sup>-8</sup> to 10<sup>-1</sup> mol/L). For the sake of continuity and comparability, the concentration values will be given in mg/L of  $\text{NO}_3^-$ . Every sensor read the impedance in each solution three times. The resulting resistance measurements obtained using the LCR-meter are shown in Figure 6.2. The fitting of a linear regression was done over the linear response range. The fitting curve will be used for further measurements.

The three sensors showed about the same range of linear response which covers the concentration expected from the growing medium to analyse. Another important point about those three curves is that one of them had a different range of covered resistance.

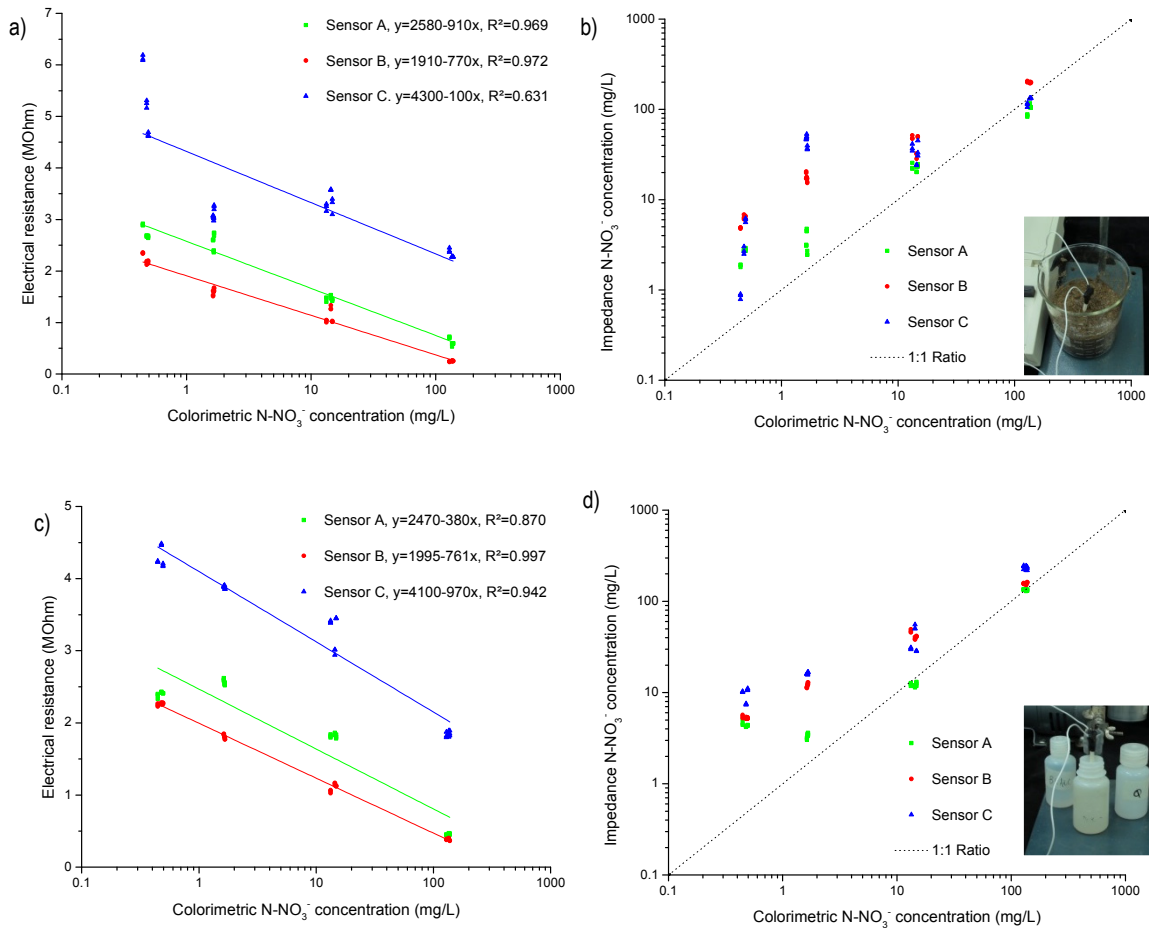


**Figure 6.2:** Electrochemical sensors calibration curves using  $\text{KNO}_3$  solutions. Each sensor presents a fitting that cover the linear portion of the signal and that is assigned by color.

### 6.5.2 Nitrate quantification in growing medium with solutions

The same sensors showed in the pure solutions tests were used in laboratory analysis of growth medium. The first tests were made in pure peat-moss using DI water as the extracting agent. However, we were unable to perform comparisons with the colorimetric techniques as this test cannot quantify concentrations below 1 mg/kg of nitrate.

The lowest concentration shown in figure 6.3 is obtained using DI water. From that value, higher concentrations of the same  $\text{KNO}_3$  solutions used for calibration were used as the extracting agent. The selected concentrations were  $10^{-4}$ ,  $10^{-3}$  and  $10^{-2}$  mol/L. The results of both the saturated substrate and the filtrate are shown as electrochemical measurements in function of the colorimetric measurement. It is to be noted that the difference between table 6.1 data and figure 6.4 concentrations is mostly attributed to the distinction of  $\text{N-NO}_3^-$  in the solution stated in mg/L and  $\text{N-NO}_3^-$  for dried medium stated in mg/kg. As the saturated medium had approximately a water content of 92%, the solution concentration is about ten times lower.



**Figure 6.3:** Electrochemical measurement in a) impedance and b) concentration results obtained from saturated potting medium and in c) impedance and d) concentration results obtained from its filtrate. Electrical resistance and calculated concentration are compared to colorimetric measured nitrate concentration.

Even though results show a good correlation between both methods, two clear deviations can be observed. First, there is a difference between each of the three sensors in the two impedance analyses, inside the saturated substrate and inside the filtrate. The second is the different linearity between the two sets of

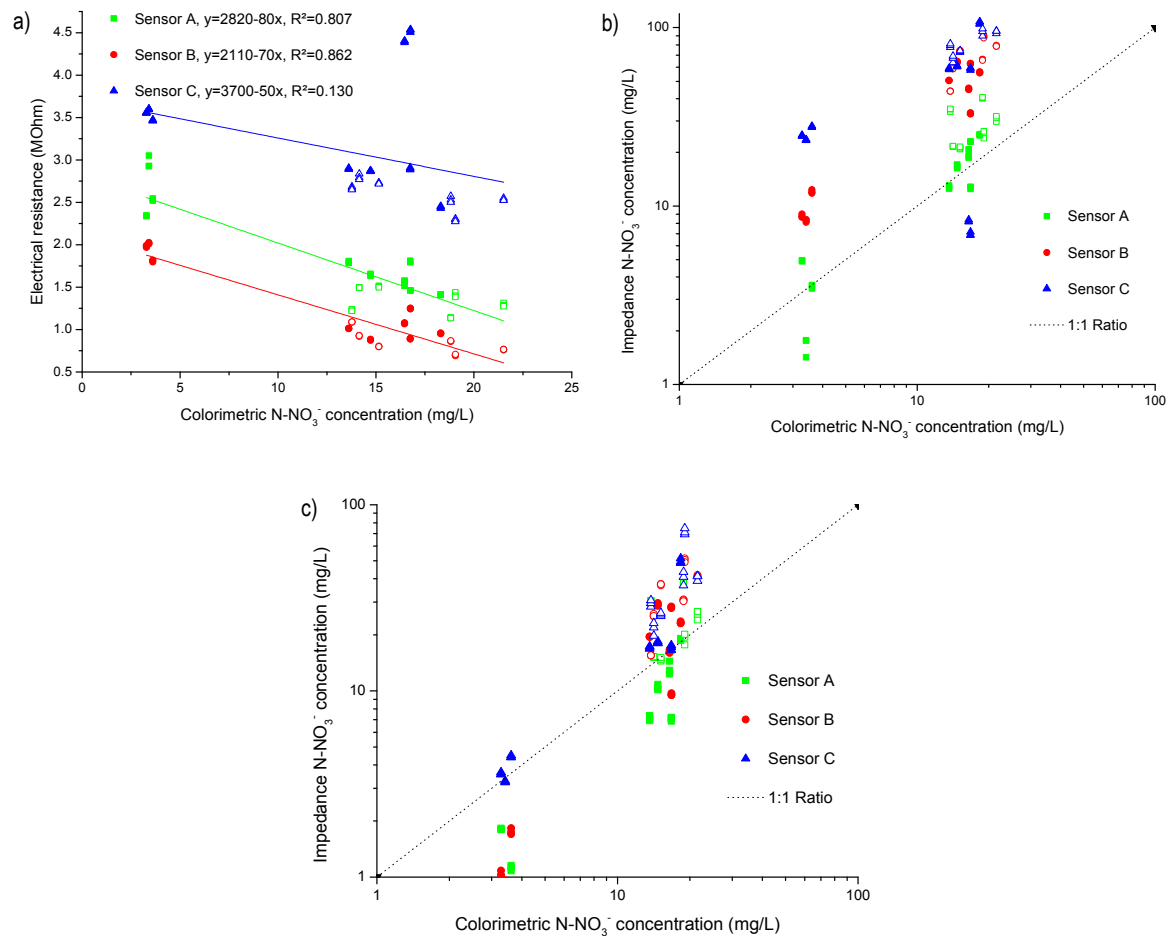


impedance results. As the electrochemical readings from the saturated substrates showed better correlation at low concentration, these conditions will be used for further measurements in growing medium as they will also use DI water extraction. Moreover, these conditions are more alike to *in situ* measurements.

### 6.5.3 Nitrate quantification in multi-ion fertilized growing medium

By using the previously presented calibration curves, the one in solution and the saturated substrate for each sensor, quantification of nitrate was tested on growing medium sampled from forest nursery over the summer. The impedance readings were done in saturated substrate where DI water was used as the extracting agent. Even if the nitrate concentration of each medium is known for the sampling date, this information is only reliable for the samples that were refrigerated below the freezing point as more than six months had gone by between the two readings. For this reason, the concentrations obtained using colorimetric measurements were used as reference to evaluate the efficiency of the electrochemical sensors. The results of this experiment are in figure 6.4. The highlighted concentrations represented with empty dots are the samples kept under the freezing point [113].

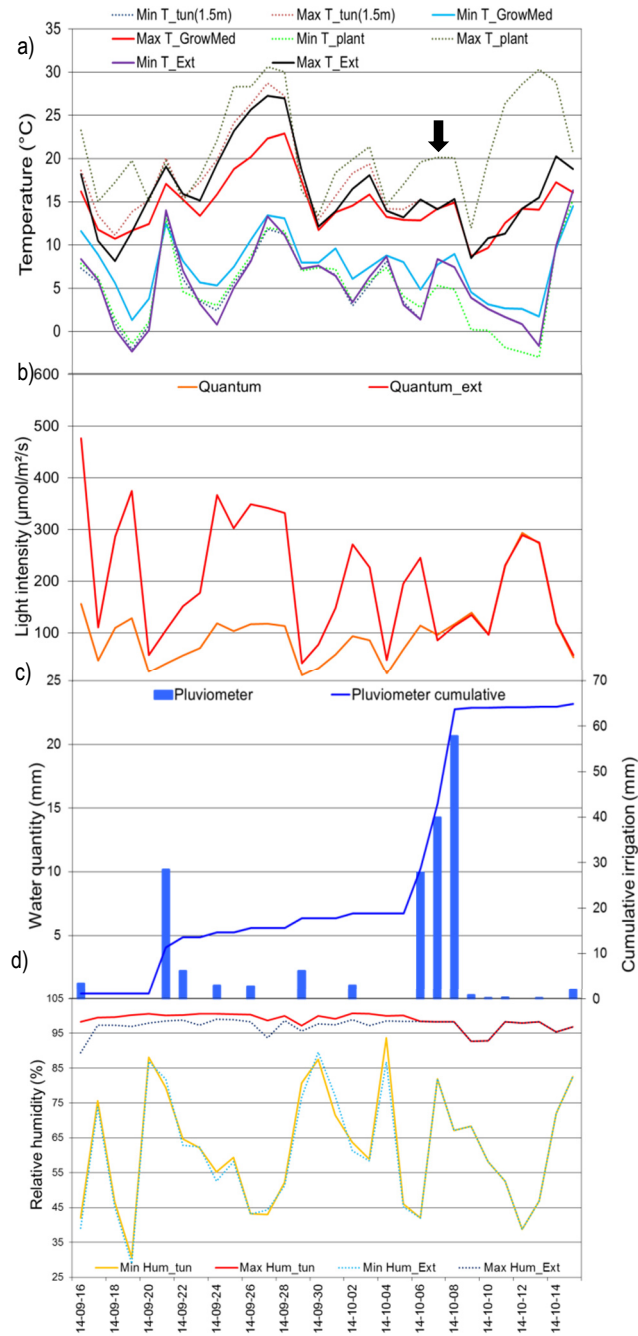
The curve of electrical resistance for the colorimetric nitrate measurement of concentration showed good linear correlation except for sensor C. As for the best fitting related to choosing the good calibration, only sensor A seemed to be close to a good ratio using the solution calibration (figure 6.4b). With that calibration, sensor B and C had over-evaluated the nitrate concentration. With the calibration obtained in the saturated substrate (figure 6.4c), sensors A and B under evaluated low nitrate concentrations. For the higher concentrations they kept a good correlation. In that scenario, sensor C showed the best tendency. Overall, the calibration obtained in the saturated substrate offered better results as variability at low concentration is quite small considering that the results are presented logarithmically.



**Figure 6.4:** a) Quantification of fertilization season samples by impedance measurement. Each sensor was associated to a linear regression to illustrate the linearity of the association. (b) Illustrates the nitrate concentration calculated from the fitting obtained in solution as (c) is obtained using the fitting obtained in nitrate-doped potting medium.

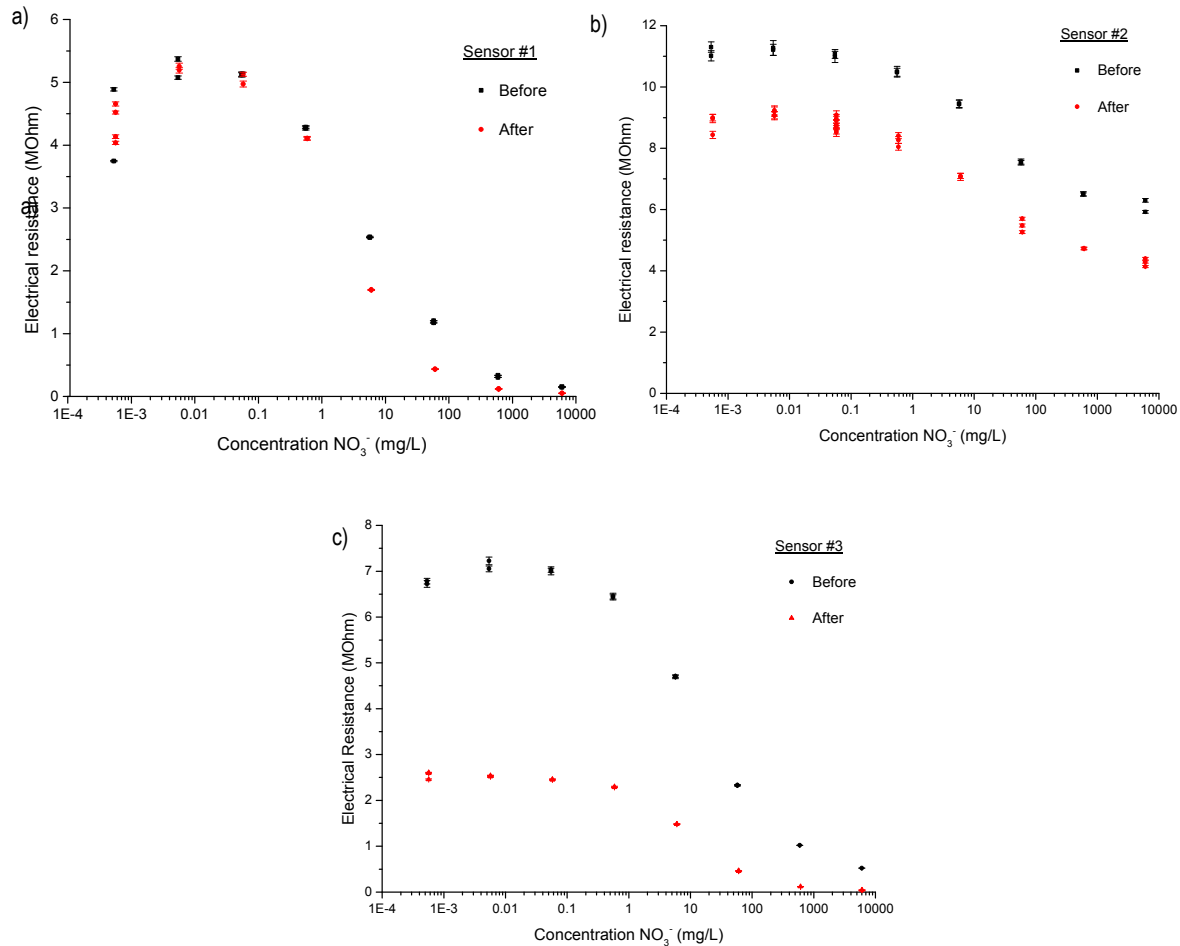
#### 6.5.4 Evaluation of sensors stability under forest nursery conditions and variability

To have a good assessment of the conditions and variability to which the sensors were exposed, the data from the meteorological station was collected and studied. Over the course of the exposition, an irrigation of up to 21 mm was applied to the growing medium, reaching a cumulative value of about 65 mm. For the temperature, the environmental temperature every day reached from 27 to -2 °C that translates to 23 and 2°C inside the substrate. The overall profile of environmental conditions is presented in figure 6.5.



**Figure 6.5:** Environmental data covering the exposition time of the sensors to forest nursery conditions including **(a)** maximum (Max T\_) and minimum (Min T\_) temperature inside (tun(1.5m)) and outside (Ext) the tunnel, and at the surface (plant) and in the rhizosphere of the substrate (GrowMed), **(b)** the light exposition inside (Quantum) and outside (Quantum\_ext) of the tunnel, **(c)** irrigation on a daily basis and cumulative, and **(d)** minimum (Min Hum\_) and maximum (Max Hum\_) relative humidity for inside (tun) and outside (Ext) the tunnel. The black arrow indicates the date of the removal of the tunnel coverage corroborated by the superposition of many data from inside and outside.

For this test, three new sensors were produced using the same recipe of 60-30-7-3% M/M of each respective membrane elements. The calibration curves of each of those electrochemical sensors before and after a month of exposition to these conditions are plotted over a wide range of  $\text{NO}_3^-$  containing solution (figure 6.6).



**Figure 6.6:** Calibration curves obtained by pure  $\text{KNO}_3$  solutions before and after a month of exposition to medium under forest nursery environmental conditions. The sensors are addressed as (a) sensor #1, (b) sensor #2 and (c) sensor #3.

From the three sets of curves obtained in this experiment, it is possible to see three types of change. One sensor (#1) has nearly not changed while another one (#2) kept the same profile of response even though it had an overall drop in value. That change can be easily accounted for by a 1-point calibration without compromising the sensor efficiency. The more concerning one (#3) showed a radical change over the month of exposition by an alteration to flexion points that affect both the linearity range in concentration and in resistance. These changes did affect drastically the efficiency of the sensor and its calibration.

## 6.6 Discussion

We showed that, the sensors can be used in pure KNO<sub>3</sub> solutions by reading impedance through an LCR-meter calibrated at 1 V, 1 kHz and RC series circuit. The concentration covered by the linear response of the electrical resistance measurement is more than enough for the nitrate concentration in growing medium, starting below 1 mg/L and going above 100 mg/L [32]. The correlation between the resistance and the concentration is high enough for such a new technology produced at a laboratory level, reaching out to an R<sup>2</sup> of 0.98.

The efficiency of this setting is a good step toward the application of the device for in situ precision measurements of nitrate for fertilisation analysis. Moreover, the size and the overall price can be brought down to more cost effective components. First, this include the scale-up of the sensor production to commercial levels, the laboratory production of each one being of about \$ 5 at the laboratory level. Secondly, smaller hand-held devices analog to the LCR-meter are already on the market for a more affordable price, such as Smart Tweezers ST-5S from Siborg system inc. [114]. This is a very important factor as the need in the domain is a high volume of data acquisitions to enable a good mapping of spatial and temporal variabilities of a production field. These applications include the optimization of fertilizer applications to reduce nutrient leaching in agriculture, forestry and horticulture, but also for watershed management, groundwater protection, etc. Such a small digital device can also be integrated to other analytical apparatus that already reported in published paper for agriculture application [115, 116].

Still, it is possible to stipulate about some limitations of the sensors. First, from one sensor to another, the impedance reading showed great variability that can be assessed directly from the calibration curve. This variability can be attributed to the production process, more precisely to the dip-coating part of the process. As this step is still hand-made at the laboratory level, the thickness and homogeneity of the membrane can vary greatly. For example, the overall rise in electrochemical resistance of a sensor compared to another one (i.e. sensor C compared to A and B) is associated to a thicker membrane surrounding the electrodes. As there is non-destructive way to assess the thickness, it was impossible to define precisely the impact of this factor.

Another major variability stood in the results obtained directly inside tree nursery conditions. These variations can be related to the production process of the different sensors. Also, the aging process may explain such disparity in the reported values. Additionally, the position variability of the sensor in relation of the container and to the plant growing in it, especially in relation to the roots or high mineral content particles like vermiculite. Even so, the fact remains that one of the sensors showed nearly no change through its exposition. This suggested that the stability of the sensor is achieved by the current design and could be usable for in situ measurements.

Homogeneity of tree nursery environmental conditions was not the only result that showed the electrochemical sensors usability for in situ fertilisation measurements. The fact that LCR-meter readings in the saturated substrate showed similar and even better results than in the filtrate, brings more a direct usability of sensors in tree nurseries. This difference was associated to the anionic exchange capacity which, even if low, allowed a good stability of nitrate ions in solution inside the water content of the saturated medium. That intrinsic selectivity coming from the growing medium affected the ionic content kinetically by the presence of peat-moss and vermiculite particles.

Though this selectivity gained by chemical interaction with particles was an advantage, the results showed that it was not enough to specifically read nitrate variations through the fertilisation season. This can be assumed from the difference between colorimetric results and electrochemical results obtained on substrate sampled over the fertilisation season. The fact that for the same calibration, nitrate concentrations had been mostly over-evaluated in this experiment, it's an indication that the rest of the ionic content, presented in table 6.2, is part of the impedance reading. Still, the impedance results from this experiment showed a relation between the full ionic content and electrical resistance.

Overall, even though the nitrate sensor was unable to achieve a selective reading of the  $\text{NO}_3^-$  content of a growing medium, it had achieved quantitative measurements inside a pure  $\text{KNO}_3$  water solution and a pure  $\text{KNO}_3$  doped growing media. As stated in the previous article, this can be attributed to the design limitation of the sensors related to the conductivity pathway chosen by the current over the ionic concentration in the solution [110].

## **6.7 Conclusions**

We present the first glimpse of a practical application of a new electrochemical sensor based on electrochemical impedance spectroscopy in a controlled tree nursery environment and in a certified growing medium analysis. In this regard, the presented measurements of electrical resistance using RC series circuit of an LCR-meter for concentrations ranging from 0.1 mg/L to 1000 mg/L of nitrate; show a linear response wide enough to cover the needs of the domain of nitrate quantification in growing medium. The sensors also showed the possibility of a great stability for over a month of environmental exposition inside tree containers. Moreover, even if the sensor did not show the expected nitrate selectivity related to the chosen ion selective membrane, the impedance measurement using the LCR-meter apparatus proved to be effective in the pure nitrate containing water solution and the nitrate-doped saturated growing medium. Also, the overall ionic content can be quantified by the use of the sensors which enable a crude in situ analysis to follow the impact of fertilisation to this system.

Moreover, through the experiment, the size and the format of the actual design was a perfect fit to forest nursery containers. Combined with the ability to do quantitative measurements in growing medium, it is now possible to think about a new generation of sensors that will give a better control of both the fabrication process and the accessible current pathway. The main challenge of this second generation device will be to achieve selectivity.

### 6.7.2 Acknowledgments

This study was conducted with the collaboration of the Direction de la recherche forestière (DRF) of the Quebec Ministère des Forêts, de la Faune et des Parcs (MFFP).

The authors thank Sylvie Goulet and Chantal Lachance at the Grandes-Piles forest nursery (MFFP), as well as Mario Renaud and Pascal Desjardins from the DRF (MFFP). The authors would also like to thank Carol Deblois, Denis Langlois and the staff of the Laboratoire de chimie organique et inorganique (DRF, MFFP), and Mathilde Loubier for their technical assistance.

Financial support for the project was assured by a grant from the Canadian Excellence Research Chair (CERCP). Complementary funding was also assured through MFFP projects (142332093 and 142332038) in seedling production.





## Conclusion

Suite à la présentation de l'ensemble des notions et résultats abordés dans ce mémoire, il est possible de statuer sur l'efficacité du premier prototype de senseur électrochimique pour le dosage des nitrates. Avant, il est toutefois important de rappeler les points importants des notions qui décrivent l'utilisation et le fonctionnement du senseur. D'abord, puisque les besoins d'analyse ioniques *in situ* sont vastes, cette nouvelle technologie a avantage à être la plus versatile et adaptable possible. Parmi toutes ces domaines, la pépinière forestière a été choisie comme planche d'essai pour représenter les défis agronomiques, économiques et environnementales liés à l'utilisation de fertilisant azoté. Pour servir dans ce domaine, le senseur doit aussi répondre à des contraintes de coût de production et d'utilisation qui assureront un vaste déploiement capable de répondre aux exigences de précisions spatio-temporelles d'une telle étude. Ensuite, grâce à l'étude des techniques de mesures déjà existantes, il est proposé que l'EIS d'une membrane sélective aux ions puisse répondre à ces critères. C'est ainsi qu'en utilisant une membrane polymérique sélective au nitrate reportée dans la littérature pour sa grande sélectivité en ISE, une première génération de senseur électrochimique pour le dosage des nitrates a été développé. Celui-ci est abordable avec un coût de production d'environ 5 dollars à l'échelle du laboratoire et offre un format compact similaire à celui d'un crayon. L'utilisation d'une membrane soluble ouvre aussi la possibilité à l'intégration et la miniaturisation en plateforme CMOS. De plus, ses connexions permettent d'en faire l'utilisation sur différentes plateformes de mesures électriques qui faciliteront son introduction futur dans un système intégré pour l'analyse multi-ionique qui pourrait être joint à une station météorologique par exemple.

Pour évaluer l'efficacité du senseur, une approche graduelle a été choisie pour s'apparenter de plus en plus aux conditions d'analyses *in situ* qui incluent les différentes propriétés physicochimiques d'un substrat de croissance dont la complexité de la matrice, la C.E.C., le pH et la teneur en eau. Les premiers résultats obtenus sont présentés au chapitre 4 et découlent des protocoles de mesure d'impédance en solution. Il est d'abord question des résultats obtenus par le protocole de mesure pour un senseur électrochimique dans une solution pure de  $\text{KNO}_3$  à différentes concentrations. Des résultats prometteurs ont montré que dans ces conditions, le senseur démontrait une perte de résistance d'un facteur 10, de 10 MOhm à 1 MOhm, de manière linéaire entre environ 0,6 ppm et 60 ppm de  $\text{NO}_3^-$ . Cette réponse, que l'on peut qualifier de forte, se trouve directement autour des concentrations de nitrates observables en substrat de croissance au courant de la saison de croissance et la précision de la mesure d'impédance est élevée comme le démontrent les barres d'incertitude dans la présentation des résultats (Figure 4.1). Toutefois, les analyses de sélectivité ont montré une incapacité complète de cette lecture à différencier le nitrate des autres ions. Pour approfondir nos connaissances sur ce problème, des senseurs fabriqués avec des membranes incomplètes ont été utilisés et

ont montré un profil de réponse de la résistance électrique en fonction de la concentration différent de la membrane dite complète. En effet, la membrane ne portant pas de site ionique se distinguait facilement des autres par l'apparition d'un pic de résistance au début du régime de réponse linéaire et par l'augmentation importante de sa résistance, principalement à basse concentration. Malgré cette réponse différente de l'ionophore seul dans la matrice de polymère, les tests de sélectivité n'ont pas réussi à faire ressortir cette propriété de l'ensemble du senseur.

Ensuite, un autre modèle de senseur a été étudié. Celui-ci se différencie par la même membrane qui a été déposée pour former un bulbe beaucoup plus épais et ainsi diminuer le ratio surface-volume et pour repousser l'interface membrane-échantillon des électrodes. Lors de la mesure d'impédance, l'absence de réponse en fonction de la concentration a permis de supposer que les interactions avec les ions se limitaient à la surface et ses environs. Ceci remet en doute l'idée initiale que l'ensemble du volume de la membrane était utilisé et que l'entrée d'ions par l'influence de l'ionophore et du site ionique dans le milieu polymérique influençait la résistance du système par l'ajout de porteurs de charges sous forme ionique. À la fin de ce volet, il est possible de dire que le senseur électrochimique offre une mesure intéressante pour le dosage du nitrate en solutions pures puisque son domaine linéaire offre une forte réponse qui couvre l'ensemble des concentrations intéressantes pour l'utilisation visée en pépinière forestière. De plus, cette réponse est très précise.

À la lumière de l'ensemble de ces résultats obtenus, il est possible de tirer des conclusions finales sur le prototype de senseur étudié dans ce mémoire. Premièrement, l'utilisation d'une membrane sélective inspirée des ISE a permis le développement rapide d'une première génération de senseur peu coûteuse qui correspond aux besoins économiques, de format et de flexibilité d'un senseur électrochimique pour le dosage *in situ* des nitrates pour le suivi de fertilisation. Son utilisation en solutions pures de nitrates et en substrats de croissance traités avec ces mêmes solutions donne des réponses linéaires de la mesure de la résistance électrique en fonction de la concentration. Deuxièmement, la conceptualisation du senseur a montré une grande versatilité dans sa compatibilité aux appareils de mesures d'impédances, allant jusqu'à être utilisable de manière efficace sur un prototype permettant la spectroscopie d'impédance développé dans le groupe de recherche. Lors des mesures en solutions pures de  $\text{KNO}_3$ , chacune de ces techniques a montré des résultats conséquents en montrant une corrélation entre l'impédance du senseur et la concentration de l'échantillon.

Lors de l'utilisation du senseur en substrats de croissance saturés, la mesure d'impédance a montré sa capacité à mesurer la concentration en nitrates lors de modifications contrôlées par le traitement fait par solution pure de  $\text{KNO}_3$ . Son usage s'est montré compatible à l'intégration dans la méthode certifiée de détermination de l'azote minérale dans l'eau du LCOI. Pour les mesures en substrats échantillonnés en

pépinière forestière et soumis à une fertilisation couvrant l'ensemble des minéraux et des micronutriments, le senseur électrochimique a montré une corrélation permettant une évaluation qualitative du contenu ionique de l'échantillon. Finalement, lors de l'exposition du senseur aux variables environnementales d'une pépinière forestière, il a été démontré que la stabilité de la calibration en solution pure était possible même après une période d'un mois.

## **Limites de l'étude**

La première et principale limite de l'étude est le manque de sélectivité du senseur. Les mesures d'impédance effectuées en solution ont montré que la perte de résistance du système est associée à l'ensemble du contenu ionique de l'échantillon et non directement lié à la concentration en nitrate. En considérant la haute sélectivité de la membrane sélective aux ions décrite dans la littérature pour son utilisation en ISE, cette limite a été étudiée davantage. Suite à la détermination du circuit équivalent et l'étude des senseurs décomposés et à membranes épaissies, le manque de sélectivité est attribué à un phénomène d'interaction limité à la surface et à la perte du courant en solution. En effet, la mobilité des ions étant nécessairement plus faible au cœur de la membrane dû à sa viscosité élevée, la conductivité ionique sera plus grande en solution. Cette situation est toutefois adressable par une nouvelle conception du senseur pour maximiser la diffusion du nitrate dans le signal d'impédance du senseur.

Pour ce qui est des différents usages du senseur électrochimique, il est important de mettre en évidence certaines limites quant à l'interprétation des résultats. En comparant les mesures d'impédance avec la spectroscopie d'impédance complexe en solution du senseur, il est possible d'attribuer un mécanisme de conduction à la fréquence spécifique utilisée sur le LCR-Meter. En utilisant la fréquence de 1 kHz, la mesure d'impédance se trouve hors du mécanisme de diffusion modélisée par une CPE dans le circuit équivalent pour une certaine plage de basse concentration. Pour assurer une lecture continue de ce mécanisme, il serait favorable d'opter pour une fréquence plus basse.

Au niveau du circuit équivalent, celui proposé est une première modélisation qui s'appuie sur une régression linéaire visant à produire le circuit le plus simple possible. Comme mentionné lors de la revue de littérature sur la spectroscopie d'impédance électrochimique, un circuit équivalent n'est ni absolu, ni unique. Une étude plus approfondie de chacun des éléments du senseur serait essentielle pour produire un circuit équivalent complet du système électrique analysé par la lecture d'impédance. Ce circuit beaucoup plus complexe ne serait utilisable que par la faible variabilité de certains éléments, comme la polarisation des électrodes par exemple.

Pour ce qui a trait aux mesures d'impédances en substrat, il est important de rappeler que les lectures ont été faites en substrats saturés et en filtrats. Ces conditions sont différentes de celles observées en pépinière

forestière et encore moins que dans un sol. La concentration des nitrates et des autres ions, bien qu'influencée par la teneur en eau du substrat au niveau de l'extraction et de la dilution, est néanmoins proportionnelle au contenu ionique du substrat. Il sera donc important d'établir le seuil de teneur en eau nécessaire à l'utilisation du senseur. Pour autant que la valeur soit inférieure à celle obtenue juste après l'irrigation, il sera possible de l'utiliser directement pour faire le suivi *in situ* de la fertilisation. Plus celle-ci sera basse, plus il sera envisageable de faire une lecture en continu de la concentration des nitrates dans les substrats de croissance.

Une dernière limite à mettre en évidence au travers de tous les résultats obtenus, est la variabilité observable entre les différents senseurs de composition similaire ou identique. Comme le procédé de production actuelle est encore manuel à l'échelle du laboratoire, il est à envisager que la déposition de la membrane et la coupe des électrodes ne sont pas optimales. Ceci peut engendrer des inhomogénéités dans l'épaisseur de la membrane. Celles-ci peuvent non seulement influencer la lecture d'impédance du senseur en jouant sur la distance entre les électrodes et l'interface membrane-échantillon, mais aussi laisser des défauts de surface sur la membrane. Ceux-ci pourraient jouer un rôle dans la mesure en trappant des charges, mais aussi en rendant la surface plus vulnérable aux dégradations mécaniques et chimiques. Le tout peut toutefois être réglé par un nouveau procédé de production automatisé.

## **Travaux futurs**

Dans le but de résoudre le problème majeur de sélectivité qui empêche la bonne performance du senseur, un prototype de deuxième génération devra être développé. Dans un premier temps, une modification étant déjà documentée dans la littérature comme un moyen d'améliorer le fonctionnement d'une ISE est la fixation des sites ioniques dans la membrane. En limitant la mobilité de ces molécules, par exemple en les greffant aux chaînes de polymère, ils répartissent leur charge au travers de la membrane. Ne pouvant se déplacer vers l'échantillon pour attirer les ions, l'interaction de surface est assurée par le peu de sites greffés à proximité et la mobilité est assumée par l'ionophore. Une fois couplé, l'attraction des sites plus profonds dans la membrane encourage une pénétration plus grande de l'ion dans celle-ci. Ceci se fait toutefois au détriment de la vitesse de réponse qui est désormais limitée par la plus faible contribution du site ionique en surface. De plus, comme les sites ioniques sont chargés, leur présence dans la membrane compte comme porteur de charge ionique, ce qui est confirmé par la domination du signal par rapport à l'ionophore en mesure d'impédance en solution. Leur fixation minimiserait donc leur contribution à la conductivité de la membrane. Ce changement pourrait néanmoins de ne pas être suffisant alors qu'en potentiométrie, il s'agit d'un moyen d'améliorer la sélectivité, pas de la créer.

Une autre approche possible visant à minimiser les changements pourrait être une simple révision de l'échelle relative des différentes structures du senseur. En sachant que la position relative des électrodes et de la surface de la membrane est importante suite à l'étude du senseur avec une membrane épaisse, il pourrait être possible d'envisager le changement de taille des électrodes et de la membrane pour avoir un meilleur contrôle sur le passage du courant. Pour faire cette étape efficacement, il serait important de trouver une source littéraire décrivant la pénétration du nitrate dans une membrane de PVC-BEHP et ainsi que sa mobilité au sein de celle-ci.

Dans un tout autre volet, il y aurait moyen d'appuyer le prochain prototype de senseur sur les interactions de surfaces. En considérant qu'une seule surface est limitante au niveau du greffage et au niveau de mesures électriques par le faible aspect capacitif de celle-ci, il serait possible d'envisager un dépôt de nanoparticules ou d'un autre substrat poreux. En déposant une structure interreliée de nanoparticules de plusieurs couches sur deux électrodes, il est maintenant possible de voir augmenter drastiquement la surface pouvant servir d'interface. Pour favoriser les interactions sélectives, des ionophores peuvent être greffés sur ces nanoparticules et pour minimiser l'attraction de la surface des nanoparticules sur les ions de manière non-spécifique, il est possible de les recouvrir de chaînes organiques par greffage où directement par polymérisation. Si l'épaisseur de cette structure est suffisante pour que le courant préfère passer à travers plusieurs domaines distincts de solutions séparés par une nanoparticule fonctionnalisée que par la solution directement, il devrait y avoir assez d'occasions pour regrouper l'ion d'intérêt à l'ionophore. En assez grand nombre, il s'agirait du mécanisme de conduction dominant, permettant la quantification spécifique par la différence cinétique entre la liaison de l'ion d'intérêt et l'ionophore et la liaison de cette molécule sélective avec les autres ions.

Un modèle rassemblant déjà plusieurs de ces caractéristiques est la structure d'une cellule Grätzel [117]. L'utilisation de nanoparticule de  $\text{TiO}_x$  permettant d'ajuster leur conductivité, par l'ajustement de « x », offre de grandes possibilités d'ajustement pour faciliter le maintien du courant au travers de la structure fonctionnalisée. De plus, le greffage de différentes structures telles des macrocycles et des complexes métallo-organiques ou organométalliques ainsi que des matières organiques hydrophobes à la surface de ces nanoparticules est déjà bien documenté dans la littérature. Au final, ce modèle s'appuierait sur le passage du courant entre les deux électrodes au travers d'une multitude d'interfaces où les chaînes organiques repoussent les ions, à la manière de la matrice d'une membrane sélective, et où les ionophores greffés permettent l'interaction sélective avec un ion donné qui peut transférer sa charge jusqu'à la nanoparticule de  $\text{TiO}_x$  qui est ajustée pour être plus conductrice qu'une solution où un milieu d'utilisation. Comme le volume de solution au sein de cette structure est faible, le ratio-surface volume est optimal pour favoriser le couplage désiré à de multiples reprises afin de lui donner une part dominante dans la conduction du système.

Pour finir, il serait possible de faire l'usage d'autres modèles de montages électriques qui peuvent favoriser la lecture du courant d'une surface, par exemple la méthode de Van der Pauw [118]. Pour se faire, il suffirait de changer le nombre et la position des électrodes par rapport à la membrane. La partie la plus limitante de ce changement pourrait être liée aux appareils de mesures capables d'accommoder ces nouvelles connexions. Quatre électrodes sont nécessaires dans le cas de Van der Pauw par exemple.

Avec l'ensemble des notions présentées dans ce mémoire et ces quelques suggestions, il est clair que malgré les performances imparfaites du premier prototype, il reste encore plusieurs avenues disponibles pour le développement de cette nouvelle technologie. De plus, le succès du prototype de première génération dans son adaptabilité aux divers appareils et aux divers milieux d'analyse porte à croire que son développement permettrait son application à de nombreux domaines d'analyse ionique.

## Bibliographie

- [1] Food and Agriculture Organization of the United Nations – Statistics Division. Agri-Environmental Indicators / Fertilizers. <http://faostat3.fao.org/download/E/EF/E> (consulté le 22-12-2015).
- [2] FAO. *World fertilizer trends and outlook to 2018*; ISBN 978-92-5-108692-6, Rome, 2015.
- [3] McBratney, A.; Whelan, B.; Ancev, T. Future Directions of Precision Agriculture. *Precis. Agric.* **2005**, *6*, 7–23.
- [4] Vitousek, P.M.; Aber, J.D.; Howarth, R.W.; Likens, G.E.; Matson, P.A.; Schindler, D.W.; Schlesinger, W.H.; Tilman, D. Technical Report: Human Alteration of the Global Nitrogen Cycle: Sources and Consequences. *Ecol. Appl.* **1997**, *7*(3), 737-750
- [5] Bacon, P.E. *Nitrogen fertilization in the environment*. Marcel Dekker, New York 1995.
- [6] Hamilton, P.A., and Helsel, D.R. Effects of agriculture on ground-water quality in five regions of the United States. *Ground Water* **1995**, *33*, 217-226.
- [7] Corwin, D.L.; Lesch, S.M. Application of Soil Electrical Conductivity to Precision Agriculture: Theory, Principles, and Guidelines. *Agron. J.* **2003**, *95*, 455–471.
- [8] Lamhamedi, M. S.; Labbé, L.; Margolis, H. A.; Stowe, D. C.; Blais, L.; Renaud, M. Spatial variability of substrate water content and growth of white spruce seedlings. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **2006**, *70*, 108–120.
- [9] Lamhamedi, M. S.; Lambany, G.; Margolis, H. A.; Renaud, M.; Veilleux, L.; Bernier, P. Y. Growth, physiology, and leachate losses in *Picea glauca* seedlings (1+0) grown in air-slit containers under different irrigation regimes. *Can. J. Forest R.* **2001**, *31*, 1968–1980.
- [10] Boudreault, S.; Pepin, S.; Caron, J.; Lamhamedi, M.S.; Paiement, I. Substrate Aeration Properties and Growth of Containerized White Spruce: A Case Study. *Vadose Zone J.* **2013**, *13*(3), 1-15.
- [11] Chighladze, G. Estimation of Change in Soil Water Nitrate-Nitrogen Concentration Using Impedance Spectra. Ph.D. Dissertation, Iowa State University, IA, USA, 2011.
- [12] Bakker, E.; Buhlmann, P.; Pretsch, E. Polymer Membrane Ion-Selective Electrodes—What are the Limits? *Electroanalysis* **1999**, *11*, 915–933.
- [13] Bergveld, P. Thirty Years of ISFETOLOGY. *Sens. Actuators B-Chem.* **2003**, *88*, 1–20.
- [14] Crespo, G.A.; Bakker, E. Dynamic electrochemistry with ionophore based ion-selective membranes. *RSC Adv.* **2013**, *48*(2), 25461-25474.
- [15] Bühlmann, P.; Pretsch, E.; Bakker, E. Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes. 2. Ionophores for Potentiometric and Optical Sensors. *Chem. Rev.* **1998**, *98*, 1593-1687.
- [16] Mu, X.; Wei, J.; Dong, J.; Ke, W. In Situ Corrosion Monitoring of Mild Steel in a Simulated Tidal Zone without Marine Fouling Attachment by Electrochemical Impedance Spectroscopy. *J. Mater. Sci. Technol.* **2014**, *30*, 1043–1050.
- [17] De Beer, C.; Barendse, P.S.; Pillay, P. Fuel Cell Condition Monitoring Using Optimized Broadband Impedance Spectroscopy. *Ind. Electron.* **2015**, *62*, 5306–5316.
- [18] Stejskal, K.; Krizkova, S.; Adam, V.; Sures, B. Bio-Assessing of Environmental Pollution via Monitoring of Metallothionein Level Using Electrochemical Detection. *Sens. J.* **2008**, *8*, 1578–1585.

- [19] Tomkiewicz, D.; Piskier, T. A plant based sensing method for nutrition stress monitoring. *Precis. Agric.* **2012**, *13*, 370–383.
- [20] Muñoz-Huerta, R.F.; Ortiz-Melendez, A.J.; Guevara-Gonzalez, R.G.; Torres-Pacheco, I.; Herrera-Ruiz, G.; Contreras-Medina, L.M.; Prado-Olivarez, J.; Ocampo-Velazquez, R.V. An Analysis of Electrical Impedance Measurements Applied for Plant N Status Estimation in Lettuce (*Lactuca sativa*). *Sensors* **2014**, *14*, 11492–11503.
- [21] Selwyna, P.G.C.; Loganathan, P.R.; Begam, K.H. Development of electrochemical biosensor for breast cancer detection using gold nanoparticle doped CA 15-3 antibody and antigen interaction. In Proceedings of 2013 International Conference on Signal Processing Image Processing & Pattern Recognition (ICSIPR), Coimbatore, India, 7–8 February 2013; 75–81.
- [22] Chowdhury, A.D.; Gangopadhyay, R.; De, A. Highly sensitive electrochemical biosensor for glucose, DNA and protein using gold-polyaniline nanocomposites as a common matrix. *Sens. Actuators B-Chem.* **2014**, *190*, 348–356.
- [23] Normandeau, C.-O.; Viens, J.-F.; Messaddeq, Y. (Université Laval). Electrochemical Sensor. US Patents WO 2014/078964 (PCT/CA2013/050893), Novembre 22, 2013.
- [24] Vogel, A.I.; Svehla, G. *Qualitative inorganic analysis*; Longman (sixième édition), 1987.
- [25] Vogel, A.I.; Basseth, J.; Denney, R.C.; Jeffrey, G.H.; Mendham, J. *Textbook of quantitative inorganic analysis*; Longman (quatrième édition), 1978.
- [26] Ballesteros-Gomez, A.; Rubio, S. Recent Advances in Environmental Analysis. *Anal. Chem.* **2011**, *83*, 4579–4613.
- [27] Galuszka, A.; Migaszewski, Z.M.; Namiesnik, J. Moving your laboratories to the field – Advantages and limitations of the use of field portable instruments in environmental sample analysis. *Environ. Res.* **2015**, *140*, 593-603.
- [28] Skocaj, D.M.; Everingham, Y.L. Nitrogen Management Guidelines for Sugarcane Production in Australia: Can These Be Modified for Wet Tropical Conditions Using Seasonal Climate Forecasting? *Springer Science Reviews* **2013**, *1*, 51-71.
- [29] Stowe, D.C.; Lamhamedi, M.S.; Carles, S.; Fecteau, B.; Margolis, H.A.; Renaud, M.; Bernier, P.Y. Managing irrigation to reduce nutrient leaching in containerized white spruce seedling production *New Forest* **2010**, *40(2)*, 185-204.
- [30] Ju, X.-T.; Xing, G.-U.; Chen, X.-P.; Zhang, S.-L.; Zhang, L.-J.; Liu, X.-J.; Cui, Z.-L.; Yin, B.; Christie, P.; Zhu, Z.-L.; Zhang, F.-S. Reducing environmental risk by improving N management in intensive Chinese agricultural systems. *P. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106(9)*, p.3041-3046.
- [31] Lamhamedi, M.S.; Margolis, H.; Renaud, M.; Veilleux, L.; Auger I. Effets de différentes régies d'irrigation sur la croissance, la nutrition minérale et le lessivage des éléments nutritifs des semis d'épinette noire (1+0) produits en récipients à parois ajourées en pépinière forestière. *Can. J. For. Res.* **2003**, *33*, 279-291.
- [32] Landis, T.D. *Containers and growing media, Vol. 2, The Container Tree Nursery Manual. Agric. Handbk.* Washington, DC:U.S. Department of Agriculture, Forest Service, 1990; pp 41-85.
- [33] Villeneuve, I. Variation morpho-physiologique des plants d'épinette blanche de différentes sources génétiques et implications pour la migration assistée. M.Sc. Mémoire, Université Laval, Québec, Qc, 2015.
- [34] Gobat, J.-M.; Aragno, M.; Matthey, W. *Le Sol vivant, Bases de pédologie -Biologie des sols*, Presses polytechniques et universitaires romandes, 3e édition, 2010, pp 51-84, 324-367, 645-654.



- [35] Camargo, J.A.; Alonso, A. Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environ. Int.* **2006**, *32*(6), 831-849.
- [36] Mettler Toledo. Products : Sensor Electrodes - Ion-Selective and Gas Sensitive Electrodes [http://ca.mt.com/ca/en/home/products/Laboratory\\_Analytics\\_Browse/pH/sensor\\_electrode/Ion\\_electrode\\_family\\_page.html](http://ca.mt.com/ca/en/home/products/Laboratory_Analytics_Browse/pH/sensor_electrode/Ion_electrode_family_page.html) (accédé le 11-01-2016)
- [37] Steed, A. W.; Ed, Gale P. *Ion-Selective Electrodes With Ionophore-Doped Sensing Membranes In Supramolecular Chemistry: From Molecules to Nanomaterials*; Ed; John Wiley & Sons, New York, 2012; Vol. 5, 2539.
- [38] Michalska, A. All-Solid-State Ion Selective and All-Solid-State Reference Electrodes. *Electroanal.* **2012**, *24*(6), 1253-1265.
- [39] Law al, A.T.; Adeloju, S.B. Progress and recent advances in phosphate sensors: A review. *Talanta* **2013**, *114*, 191-203.
- [40] Hubert H. Girault. *Analytical and physical electrochemistry*. First edition, EPFL Press, 2004, 1-264, 339-374.
- [41] Sutter, J.; Morf, W.E.; de Rooij, N.F.; Pretsch, E. Current response of ion-selective solvent polymeric membranes at controlled potential. *J. Electroanal. Chem.* **2004**, *571*, 27-35
- [42] Bakker, E.; Bühlmann, P.; Pretsch, E. The phase-boundary potential model. *Talanta* **2004**, *63*, 3-20
- [43] Veder, J.-P.; De Marco, R.; Patel, K.; Si, P.; Grygolicz-Pawlak, E.; James, M.; Alam, M.T.; Sohail, M.; Lee, J.; Pretsch, E.; Bakker, E. Evidence for a Surface Confined Ion-to-Electron Transduction Reaction in Solid-Contact Ion-Selective Electrodes Based on Poly(3-octylthiophene). *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 10495-10502.
- [44] Zubrowska, M.; Wroblewski, W. and Wojciehowski, K. The effect of lipophilic salts on surface charge in polymeric ion-selective electrodes. *Electrochim. Acta*, **2011**, *56*, 6114-6122.
- [45] Milham, P.J.; Awad, A.S.; Paull, R.E.; Bull, J.H. Analysis of Plants, Soils and Waters for Nitrate bu Using an Ion-selective Electrode. *Analyst*, **1970**, *95*, 751-757
- [46] He, M.-M.; Yang, H.Z. Development of a Poly(vinyl chloride)-based Nitrate Ion-selective Electrode. *Chem.Res. Chinese U.* **2012**, *28*(6), 957-962.
- [47] Watts, A.S.; Gavalas, V.G.; Cammers, A.; Andrada, P.S.; Alajarin, M.; Bachas, L.G. Nitrate-selective electrode based on a cyclic bis-thiourea ionophore. *Sensor and Actuat B-Chem.* **2007**, *121*, 200-207.
- [48] Kong Thoo Lin, P.; Araujo, A.N.; Montenegro, M.C.B.S.M.; Pérex-Olmos, R. New PVC Nitrate-Selective Electrode: Application to Vegetables and Mineral Waters. *J. Agric. Food Chem.* **2005**, *53*, 211-215.
- [49] Ortuno, J.A.; Exposito, R. Sanchez-Pedreno, C.; Albero, M.I.; Espinosa, A. A nitrate-selective electrode based on a tris(2-aminoethyl)amine triamide derivative receptor. *Anal. Chem. Acta* **2004**, *525*, 231-237.
- [50] Asghari, A.; Amini, M.K.; Mansour, H.R.; Salavati-Niasari, M.; Rajabi, M. *Nitrate-Selective Membrane Electrode Based on Bis(2-hydroxyanyl)actylacetone Lead(II) Neutral Carrier*. *Anal. Sci.* **2003**, *19*, 1121-1125.
- [51] Fernandez-Ramos, M.D.; Greluk, M.; Palma, A.J.; Arroyo-Guerrero, E.; Gomez-Sanchez, J.; Capitan-Vallvey, L.F. The use of one-shot sensors with a dedicated portable electronic radiometer for nitrate measurements in aqueous solutions. *Meas. Sci. Technol.* **2008**, *19*, 1-7.

- [52] Ardakani, M.M.; Dastanpour, A.; Salavati-Niasari, M. A highly selective nitrate electrode based on a tetramethyl cyclotetra-decanato-nickel(II) complex. *J. Electroanal. Chem.* **2004**, *568*, 1-6.
- [53] Caiut, J.M.A.; Nakagaki, S.; Fridermann, G.R.; Drechsel, S.M.; Zarbin, A.J.G. Nickel(II) and manganese(III) tetraazaannulenes complexes encapsulated in porous Vycor (PVG): investigation of catalytic activity. *J. Mol. Catal. A-Chem.* **2004**, *222*, 213-222.
- [54] Xu, H.; Wang, Y.; Luo, Z.; Pan, Y. A miniature all-solid-state calcium electrode applied to in situ seawater measurement. *Meas. Sci. Technol.* **2013**, *24*, 1-6.
- [55] Michalska, A. All-Solid-State Ion Selective and All-Solid-State Reference Electrodes. *Electroanal.* **2012**, *24(6)*, 1253-1265.
- [56] Zou, X.U.; Cheong, J.H.; Taitt, B.J.; Bühlmann, P. Solid Contact Ion-Selective Electrodes with a Well-Controlled Co(II)/Co(III) Redox Buffer Layer. *Anal. Chem.* **2013**, *85*, 9350-9355.
- [57] Sutter, J.; Radu, A.; Peper, S.; Bakker, E.; Pretsch, E. Solid-contact polymeric membrane electrodes with detection limits in the subnanomolar range. *Anal. Chim. Acta* **2004**, *523*, 53-59.
- [58] De Marco, R.; Veder, J.-P.; Clarke, G.; Nelson, A.; Prince, K.; Pretsch, E.; Bakker, E. Evidence of a water layer in solid-contact polymeric ion sensors. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2008**, *10*, 73-79.
- [59] Bakker, E. Enhancing ion-selective polymeric membrane electrodes by instrumental control. *Trac-Trend Anal. Chem.* **2014**, *53*, 98-105.
- [60] Grygolowicz-Pawlak, E.; Bakker, E. Thin Layer Coulometry with ionophore based ion-selective membranes. *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 4537-4542.
- [61] Sohail, M.; De Marco, R.; Lamb, K.; Bakker, E. Thin layer coulometric determination of nitrate in fresh waters. *Anal. Chim. Acta* **2012**, *744*, 39-44.
- [62] Lee, C.-S.; Kim, S.K.; Kim, M. Ion-Selective Field-Effect Transistor for Biological Sensing. *Sensors* **2009**, *9*, 7111-7131.
- [63] Sessolo, M.; Rivnay, J.; Bandiello, E.; Malliaras, G.G.; Bolink, H.J. Ion-Selective Organic Electrochemical Transistors. *Adv. Mater.* **2014**, *26*, 4803-4807.
- [64] Ho, H.A.; Leclerc, M. New Colorimetric and Fluorimetric Chemosensor Based on a Cationic Polythiophene Derivative for Iodide-Specific Detection. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4412-4413.
- [65] Modi, N.R.; Patel, B.; Patel, M.B.; Menon, P.S. Novel monohydrogenphosphate ion-selective polymeric membrane sensor based on phenyl urea substituted calix[4]arene. *Talanta* **2011**, *86*, 121-127.
- [66] Lin, X.; Wu, X.; Xie, Z.; Wong, K.-Y. PVC matrix membrane sensor for fluorescent determination of phosphate. *Talanta* **2006**, *70*, 32-36.
- [67] Beaujuge, P.M.; Amb, C.M.; Reynolds, J.R. A Side-Chain Defunctionalization Approach Yields a Polymer Electrochrome Spray-Processable from Water. *Adv. Mater.* **2010**, *22*, 5383-5387.
- [68] Galloway, J.N.; Dentener, F.J.; Capone, D.G.; Boyer, E.W.; Howarth, R.W.; Seitzinger, S.P.; Asner, G.P.; Cleveland, C.C.; Green, P.A.; Holland, E.A.; Karl, D.M.; Michaels, A.F.; Porter, J.H.; Townsend, A.R.; Vorosmarty, C.J. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry*, **2004**, *70(2)*, 153-226.
- [69] Erisman, J.W.; Sutton, M.A.; Galloway, J.; Klimont, Z.; Winiwarter, W. How a century of ammonia synthesis changed the world. *Nature Geoscience*, **2008**, *1(10)*, 636-639.
- [70] Fenn, M.E.; Poth, M.A.; Aber, J.D.; Baron, J.S.; Bormann, B.T.; Johnson, D.W.; Lemly, A.D.; McNulty, S.G.; Ryan, D.E.; Stottlemyer, R. Nitrogen excess in North American ecosystems:

- Predisposing factors, ecosystem responses and management strategies. *Ecol. Appl.* **1998**, 8(3), 706-733.
- [71] Dean, J.A. Lange's Handbook of Chemistry, 15th Edition, McGraw-Hill, New York, 1999.
- [72] Vanysek, P.; Lide, D.R. Ionic conductivity and diffusion at infinite dilution. In: CRC Handbook of Chemistry and Physics, 83rd Edn, CRC Press, Boca Raton, 2002, pp. 5-74.
- [73] Gunnarsson, U. Global patterns of Sphagnum productivity. *J. Bryol.* **2005**, 27(3), 269-279.
- [74] Garbaye, J.; Churin, J.L.; Duponnois, R. Effects of substrate sterilization, fungicide treatment, and mycorrhization helper bacteria on ectomycorrhizal formation of pedunculate oak (*Quercus-robur*) inoculated with *laccaria-laccata* in 2 peat bare-root nurseries. *Biol. Fert. Soils* **1992**, 13(1), 55-57.
- [75] Andersen, R.; Rochefort, L.; Landry, J. La chimie des tourbières du Québec : un synthèse de 30 années de données. *Le Naturaliste Canadien*, **2011**, 135(1), 5-14.
- [76] Xing, B.S.; Pignatello, J.J.; Gigliotti, B. Competitive sorption between atrazine and other organic compounds in soils and model sorbents. *Environ. Sci. Technol.* **1996**, 30(8), 2432-2440.
- [77] McKeague, J.A. Manuel de methods d'échantillonnage et d'analyse des sols. Société canadienne de la science du sol, 2<sup>e</sup> édition, **1978**.
- [78] Norouzi, P.; Ganjali, M.R.; Faridbod, J.; Shahtaheri, S.J.; Zamani H.A. Electrochemical Anion Sensor for Monohydrogen Phosphate Based on Nano-composite Carbon Paste. *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2012**, 7, 2633-2642.
- [79] De los A. M.; Pérez, A.; Pérez Marin, L.; Quintana, J.C.; Yazdani-Pednam, M. Influence of different plasticizers on response of chemical sensors based on polymeric membranes for nitrate ion determination. *Sensor Actuat. B-Chem.* **2003**, 89(3), 262-268.
- [80] Cristina Mihali and Nora Vaum (2012). Use of Plasticizers for Electrochemical Sensors, Recent Advances in Plasticizers, Dr. Mohammad Luqman (Ed.), ISBN: 978-953-51-0363-9, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/recent-advances-in-plasticizers/use-of-plasticizers-for-electrochemical-sensors>
- [81] Shriver, D.F.; Atkins, P.W. *Chimie inorganique*, 3e édition, DeBoeck Université, 2001, 228.
- [82] Pretsch, E.; Badertscher, M.; Welti, M.; Takuya, M.; Morf, W.E.; Simon, W. Design features of ionophores for ion selective electrodes. *Pure & Appl. Chem.* **1988**, 60(4), 567-574.
- [83] J.D.R. Thomas, Ion-Selective Electrode Reviews, Volume 7, Pergamon Press, 1986, 96-99.
- [84] Moya,A.A. Electrochemical Impedance of Ion-Exchange Membranes in ternary Solutions with Two Counterions. *J. Phys. Chem.* **2014**, 118(5), 2539-2553.
- [85] Yuan, X.-Z.; Song, C.; Wang, H.; Zhang, J. *Electrochemical Impedance Spectroscopy in PEM Fuel Cells – Fundamentals and Applications*. Springer-Verlag London, 2010, 1-192.
- [86] Bard, A.J.; Faulkner, L.R. *Electrochemical Methods*. Second edition, John Wiley & sons, Austin USA, 2001, pp.1-260, 368-416, 534-658.
- [87] Gamry Instruments. Basic of Electrochemical Impedance Spectroscopy – Webinar on EIS of Batteries. <http://www.gamry.com/application-notes/EIS/basics-of-electrochemical-impedance-spectroscopy/> (accédé 26 mai 2015).
- [88] Lasia, A.; Conway, B.E.; Bockris, J.; White, R.E. *Electrochemical Impedance Spectroscopy and its Applications, Modern Aspects of Electrochemistry*; Kluwer Academic/Plenum, New York, 1999, Vol 32, pp. 143-248.

- [89] Krulic, D. *Principes de la cinétique électrochimique – Laboratoire liquides ioniques et interfaces chargées – L12C*. Université Pierre et Marie Curie, Paris, 2007.
- [90] Jäger, E.G.; Uhlig, E. Ein neues Nickelchelat mit allseitig geschlossenem Ring-System. *Z. Chem.* **1964**, 4(11), 437.
- [91] D.R. Neves, J.C. Dabrowiak. Manganese and zinc complexes incorporating an unsaturated cyclic Schiff base ligand. *Inorg. Chem.* **1976**, 15(1), 129
- [92] P.J. Lukes, J.A. Crayston, D.J.; M.A. Harman, M.B. Hursthouse. Crystal structures of H<sub>2</sub>[Me<sub>2</sub>dibenzo[14]tetraene]N<sub>4</sub>: new tetraaza macrocycles. *J. Chem. Soc. Perk. T. 2* **1991**, 11, 1845-1849.
- [93] Sanford Research Systems. (2006). Model SR715 Model SR720 LCR Meters : User's Manual. Sunnyvale, CA : Author.
- [94] Umezawa, Y.; Umezawa, K.; Sato, H. Selectivity coefficients for ion-selective electrodes : recommended methods for reporting K<sup>pot</sup><sub>A,B</sub> Values. *Pure & Appl. Chem.* **1995**, 67(3), 507-518.
- [95] Solartron Analytical UK. (2005). Impedance / Gain-Phase Analyser 1260 : Operating Manual. Farnborough, Hampshire : Author.
- [96] Schaffers, H.; Komninos, N.; Pallot, M.; Trousse, B.; Nilsson, M. *The Future Internet*; Springer: Berlin, Germany, 2011; Volume 6656, pp. 431–446.
- [97] Macdonald, J.R.; Barsoukov, E. *Impedance Spectroscopy Theory, Experiment, and Applications*; Wiley-Interscience: Hoboken, NJ, 2005.
- [98] Lasia, A. *Electrochemical Impedance Spectroscopy and Its Applications*, 1st ed.; Springer: New York, NY, USA, 2014; pp. 7–66.
- [99] Wang, L.; Zhao, J.S.; He, X.M.; Gao, J.; Li, J.J.; Wan, C.R.; Jiang, C.Y. Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) Study of LiNi<sub>1/3</sub>Co<sub>1/3</sub>Mn<sub>1/3</sub>O<sub>2</sub> for Li-ion Batteries. *J. Electrochem. Sci.* **2012**, 7, 345–353.
- [100] Rioux, M.; Ledemi, Y.; Viens, J.; Morency, S.; Ghaffari, S.A.; Messaddeq, Y. Optically-transparent and electrically-conductive AgI-AgPO<sub>3</sub>-WO<sub>3</sub> glass fibers. *RSC Adv.* **2015**, 5, 40236–40248.
- [101] Bondarenko, A.S.; Ragoisha, G.A. *Progress in Chemometrics Research*; Pomerantsev, A.L., Ed.; Nova Science Publishers: New York, NY, USA, 2005; pp. 89–102. Available online: <http://www.abc.chemistry.bsu.by/vi/analyser/> (accessed on 4 April 2015).
- [102] Agilent Impedance Measurement Handbook: A Guide to Measurement Technology and Techniques, 4th Edition. Available online: <http://cp.literature.agilent.com/litweb/pdf/5950-3000.pdf> (accessed on 4 April 2015).
- [103] Analog Devices. 1 MSPS, 12 Bit Impedance Converter Network Analyzer, Datasheet AD5933. Available online: <http://www.analog.com/media/en/technical-documentation/datasheets/AD5933.pdf> (accessed on 4 April 2015).
- [104] Matsiev, L. Improving Performance and Versatility of Systems Based on Single-Frequency DFT Detectors such as AD5933. *Electronics* **2015**, 4, 1–34.
- [105] Analog Devices. EVAL-AD5933EB Document. Available online: [http://www.analog.com/media/en/technicaldocumentation/evaluationdocumentation/537700023/EVAL\\_AD5933EB.pdf](http://www.analog.com/media/en/technicaldocumentation/evaluationdocumentation/537700023/EVAL_AD5933EB.pdf) (accessed on 15 June 2015).

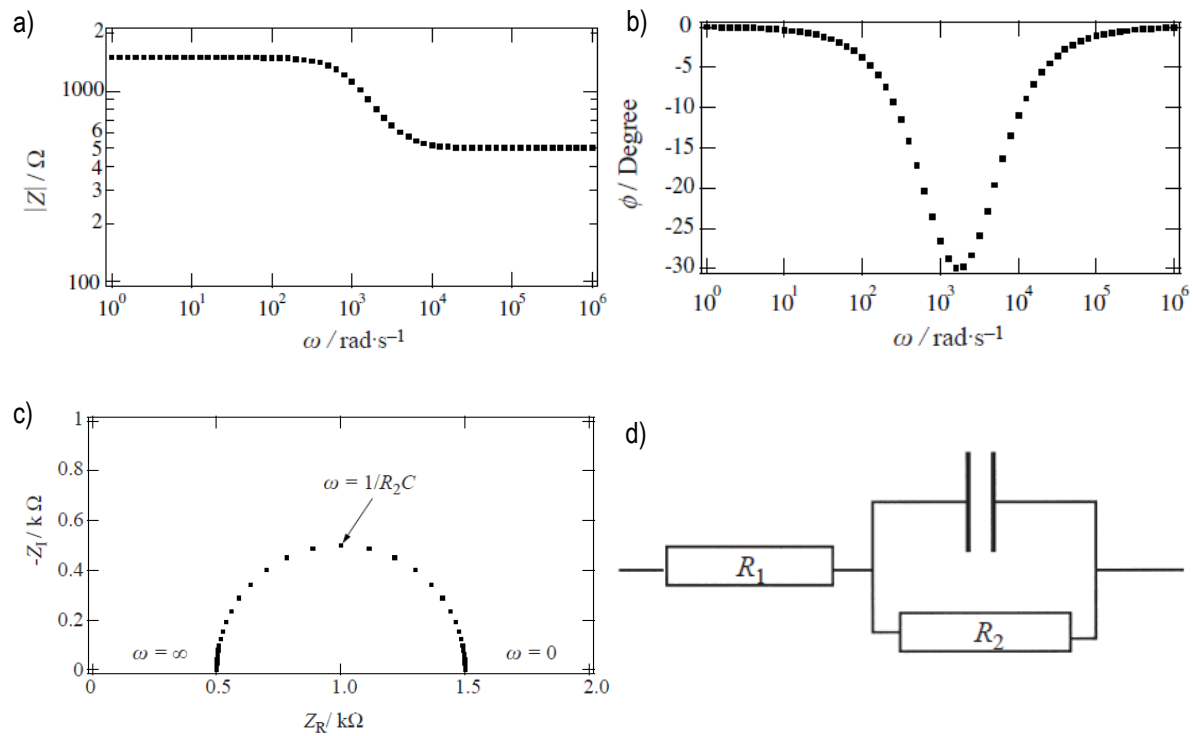
- [106] Lamhamedi, M.S.; Chamberland, H.; Bernier, P.Y.; Tremblay, F.M. Clonal variation in morphology, growth, physiology, anatomy and ultrastructure of container-grown white spruce somatic seedlings. *Tree Physiol.* **2000**, *20*, 869–880.
- [107] ISO/IEC 17025 relates to the International Organization for Standardization (ISO) and the International Electrotechnical Commission (IEC), and specifies the general requirements for the competence to carry out tests and/or calibrations, including sampling. It covers testing and calibration performed using standard methods, non-standard methods, and laboratory-developed methods. [http://www.iso.org/iso/catalogue\\_detail.htm?csnumber=39883](http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=39883) (accessed on 14 July 2015).
- [108] Dixon, G.R. Climate change – impact on crop growth and food production, and plant pathogens. *Can. J. Plant. Pathol.* **2012**, *34*(3), 362-379.
- [109] Ghaffari, S.; Caron, W.-O.; Loubier, M.; Rioux, M.; Viens, J.; Gosselin, B.; Messaddeq, Y. A Wireless Multi-Sensor Dielectric Impedance Spectroscopy Platform. *Sensors* **2015**, *15*(9), 23572-23588.
- [110] Ghaffari, S.A.; Caron, W.-O.; Loubier, M.; Normandeau, C.-O.; Viens, J.; Lamhamedi, M.S.; Gosselin, B.; Messaddeq, Y. Electrochemical Impedance Sensors for Monitoring Trace Amounts of NO<sub>3</sub> in Selected Growing Media. *Sensors* **2015**, *15*(7), 17715-17727.
- [111] Stanford Research Systems – SRS Manuals: LCR Meters SR720. Available online : <http://www.thinksrs.com/downloads/man.htm> (accessed on 12 January 2016)
- [112] Girard, D.; Gagnon, J.; Langlois, C. G. *PLANTEC : un logiciel pour gérer la fertilisation des plants dans les pépinières forestières* Gouvernement du Québec, ministère des Ressources naturelles, Direction de la recherche forestière, Sainte-Foy, Québec. Note de Recherche Forestière. 2001.
- [113] Clesceri, L.S.; Greenberg, A.E.; Eaton, A.D. *Standard Method for Examination of Water and Wastewater*. American Public Health Association, 20<sup>e</sup> Edt., Washington, 1998, pp. I-33 – I-35.
- [114] Siborg Systems Inc. Smart Tweezers ST-5S: The Solution to Testing and Evaluating Surface Mount Technology – Smart Tweezers Manual. <http://www.smarttweezers.ca/> (accessed on 12 January 2016)
- [115] Adamchuk, V.I.; Hummel, J.W.; Morgan, M.T.; Upadhyaya, S.K. On-the-go soil sensors for precision agriculture. *Comput Electron Agr.* **2004**, *44*, 71-91.
- [116] Schirrmann, M. Gebbers, R.; Kramer, E.; Seidel, J. Soil pH Mapping with an On-The-Go Sensor. *Sensor* **2011**, *11*, 573-598.
- [117] Oregon, B.; Gratzel, M. A low-cost, high-efficiency solar-cell based on dye-sensitized colloidal TiO<sub>2</sub> films. *Nature* **1991**, *353*(6346), 737-740.
- [118] Van der Pauw, L.J. A Method of Measuring specific resistivity and Hall effect of discs of arbitrary shape. *Philips. Res. Repts.* **1958**, *13*(1), 1-9.



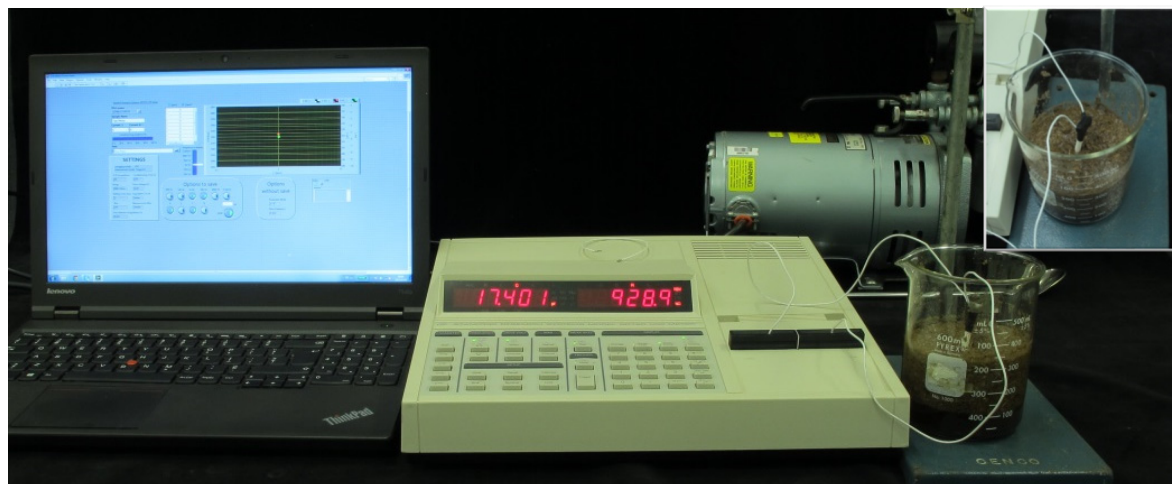
## Annexes

**Tableau A1** : Compilation d'informations liés aux ISE dont le registre de concentration mesuré, les ions interférences et des exemples de domaines d'utilisation (adapté de H. H. Girault 2004 [40]).

Analyte	Measuring Range / M	Interfering species	Examples
H <sup>+</sup>	10 <sup>-14</sup> ... 1	Li <sup>+</sup>	Measurement of pH and titrations
Na <sup>+</sup>	10 <sup>-5</sup> ... 1	pH > pNa + 4, Ag <sup>+</sup> , Li <sup>+</sup> , K <sup>+</sup>	Water, clinical analysis, ...
K <sup>+</sup>	10 <sup>-6</sup> ... 1	Cs <sup>+</sup> , NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , H <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup>	Soil, fertilizer, wine, clinical analysis, ...
Ca <sup>2+</sup>	5 10 <sup>-7</sup> ... 1	Na <sup>+</sup> , Pb <sup>2+</sup> , Fe <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> Mg <sup>2+</sup>	Soil, food, milk, ..
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	7 10 <sup>-6</sup> ... 1	Br <sup>-</sup> , NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup> , OAc <sup>-</sup>	Soil, vegetables, water, food, ...
BF <sub>4</sub> <sup>-</sup>	7 10 <sup>-6</sup> ... 1	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , ClO <sub>4</sub> <sup>-</sup> , F <sup>-</sup> , OAc <sup>-</sup>	Surface active agents, plating baths....
F <sup>-</sup>	10 <sup>-6</sup> ... sat	OH <sup>-</sup>	Cosmetic products, pharmaceuticals, manure, ...
Cl <sup>-</sup>	5 10 <sup>-5</sup> ... 1	Br <sup>-</sup> , I <sup>-</sup> , S <sup>2-</sup> , CN <sup>-</sup> , NH <sub>3</sub> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Food, paper,...
Br <sup>-</sup>	5 10 <sup>-6</sup> ... 1	Cl <sup>-</sup> , I <sup>-</sup> , S <sup>2-</sup> , CN <sup>-</sup> , NH <sub>3</sub> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Clinical analysis, gasoline, Chemical industry
I <sup>-</sup>	5 10 <sup>-8</sup> ... 1	Cl <sup>-</sup> , Br <sup>-</sup> , S <sup>2-</sup> , CN <sup>-</sup> , NH <sub>3</sub> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Clinical analysis, determination of Hg
CN <sup>-</sup>	8 10 <sup>-6</sup> ... 10 <sup>-2</sup>	Br <sup>-</sup> , I <sup>-</sup> , Cl <sup>-</sup>	Water, plating baths
SCN <sup>-</sup>	5 10 <sup>-6</sup> ... 1	Cl <sup>-</sup> , Br <sup>-</sup> , S <sup>2-</sup> , CN <sup>-</sup> , S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Plating baths
S <sup>2-</sup> , Ag <sup>+</sup>	10 <sup>-7</sup> ... 1	Proteins	S <sup>2-</sup> : Food, paper Ag <sup>+</sup> : plating baths
Cu <sup>2+</sup>	10 <sup>-8</sup> ...10 <sup>-1</sup>	Ag <sup>+</sup> , Hg <sup>2+</sup> , S <sup>2-</sup>	Water, plating baths
Cd <sup>2+</sup>	10 <sup>-7</sup> ...10 <sup>-1</sup>	Ag <sup>+</sup> , Hg <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup>	Soil, water, plating baths
Pb <sup>2+</sup>	10 <sup>-6</sup> ...10 <sup>-1</sup>	Ag <sup>+</sup> , Hg <sup>2+</sup> , Cu <sup>2+</sup>	Soil, water, plating baths



**Figure A.1:** Illustration de l'impédance complexe selon a) un Bode du module  $|Z|$ , b) un Bode de la phase  $\Phi$ , c) le Nyquist et d) le circuit équivalent où  $R_1 = 500$  Ohm,  $R_2 = 1$  kOhm et  $C = 1$   $\mu\text{F}$  [40].



**Figure A.2:** Montage utilisé pour la prise de mesures d'impédance en substrat de croissance saturé au laboratoire certifié.