



Procédés électrochimiques : des capteurs embarqués aux matériaux d'électrodes

Carole Barus

► To cite this version:

Carole Barus. Procédés électrochimiques : des capteurs embarqués aux matériaux d'électrodes. Chimie. Université de Toulouse - Toulouse III - UPS, 2023. <tel-04765433>

HAL Id: tel-04765433

<https://hal.science/tel-04765433v1>

Submitted on 4 Nov 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

Travaux présentés le **7 Juin 2023** devant
à l'Université de Toulouse III - Paul Sabatier

par **Carole BARUS**

en vue de l'obtention du diplôme d'Habilitation à Diriger des Recherches

« Procédés électrochimiques : des capteurs embarqués aux matériaux d'électrodes »

JURY

Dr. Laurent BOUFFIER	Directeur de recherche CNRS, ENSMAC, Bordeaux - Rapporteur
Pr. Carole CALAS-BLANCHARD	Professeure, Université de Perpignan Via Domitia, BAE-LBBM USR 3579 - Rapporteuse
Pr. Didier DEVILLIERS	Professeur émérite, Sorbonne Université Paris, PHENIX UMR 8234 - Rapporteur
Dr. Catherine DEBIEMME-CHOUVY	Directrice de recherche CNRS, Sorbonne Université Paris, LISE UMR 8235 - Examinatrice
Pr. Pierre GROS	Professeur, Université de Toulouse III, Laboratoire de Génie Chimique UMR 5503 - Président du jury
Dr. Laurent MASSOT	Maître de conférences, Université de Toulouse III, Laboratoire de Génie Chimique UMR 5503 - Parrain d'HDR

Sommaire

Introduction générale	1
------------------------------------	----------

Chapitre I : Les procédés électrochimiques pour l'analyse de milieux complexes	3
---	----------

I – Détermination du mécanisme d'oxydation d'une molécule modèle	4
II – Association d'antioxydants : étude électrochimique en milieux homogènes et hétérogènes	8
II.1 – Associations en milieux homogènes.....	9
II.1.1 - Milieu aqueux	9
II.1.2 - Milieu organique.....	10
II.2 – Associations en milieu hétérogène : étude à l'interface liquide/liquide	11
II.3 – Echelle redox expérimentale	13
III – Etude électrochimique de milieux complexes.....	14
IV – Conclusions	16
Références bibliographiques.....	17

Chapitre II : Développement de capteurs électrochimiques autonomes pour la mesure des Silicates et des Phosphates	19
--	-----------

I – Principe de détection électrochimique sans ajout de réactif	22
I.1 – Dissolution anodique du molybdène.....	24
I.2 – Détection électrochimique des complexes Silico et Phosphomolybdiques.....	28
I.3 – Cas particulier des Phosphates : interférent et sensibilité	30
I.3.1 - Interférence des silicates	30
I.3.2 – Sensibilité de la détection par voltammétrie à vague carrée	32
II – Développement instrumental vers le capteur intégré Silicate	34
II.1 – Premiers prototypes de cellule intégrée pour la détection des silicates	35
II.1.1 - Développement et conception des électrodes	35

II.1.2 - Prototype faible volume à cellule unique.....	37
II.1.3 - Prototype faible volume à 2 cellules séparées	39
II.1.4 - Développement de l'électronique embarquée	42
II.2 – Capteur Silicate intégré, immergeable	43
II.2.1 - Présentation	44
II.2.2 - Figures de mérite	46
II.2.2.1 - Etalonnage	46
II.2.2.2 - Justesse et précision.....	48
II.2.2.3 – Sensibilité et répétabilité	50
II.2.2.4 – « Recovery tests »	51
III – Déploiements <i>in situ</i> et validation du capteur Silicate	52
III.1 – Intercomparaison avec la colorimétrie dans l'étang de Thau (Méditerranée) ..	53
III.2 – Déploiement au large de l'île de Pâques dans le Pacifique	57
IV – Conclusions	60
Références bibliographiques.....	64

Chapitre III : Mise au point d'électrodes bimétalliques pour la détection des nitrates – Contrôle du procédé de dépôt électrolytique 69

I – Détection des nitrates : quels enjeux ?	70
II – Electrode bimétallique AgNPs/Au	71
II.1 – Influence de la charge de dépôt Ag	72
II.2 – Caractérisation du dépôt d'Ag sur Au	75
III – Contrôle du procédé de dépôt électrolytique du cuivre	76
III.1 – Etude de nucléation du cuivre	77
III.2 – Optimisation des paramètres de dépôt.....	81
III.2.1 - Potentiel de dépôt de Cu.....	81
III.2.2 - Charge optimale de dépôt.....	82
III.3 – Evaluation des performances Cu/Ag : détection NO_3^- dans des matrices d'eaux naturelles.....	84
III.3.1 - Détection dans l'eau de mer	85
III.3.1.1 - Etalonnage et évaluation de la sensibilité	85
III.3.1.2 - Justesse de mesure	86

III.3.2 - Détection dans l'eau douce potable.....	87
IV – Conclusions	89
Références bibliographiques.....	90
 Projets & Perspectives : Elaboration de nouveaux matériaux d'électrode.....	95
 I – Augmentation de la sensibilité par modification de la surface active	96
I.1 – Traitement de surface du cuivre : optimisation.....	97
I.2 – Détection des nitrates dans les eaux naturelles	99
II – Dopage d'hétéroatomes par dépôt réactif en sels fondus	103
II.1 – Nitrures de Carbone (CN _x)	105
II.2.1 – Elaboration CN _x dans LiF/CaF ₂	106
II.2.2 – Application : dégradation de pesticide	108
II.2– Nitrures métalliques : exemple des CuN _x	111
Références bibliographiques.....	114
 Abbreviations	117

Introduction

Introduction générale

Procédés électrochimiques : des capteurs embarqués aux matériaux d'électrode

Le titre de mon manuscrit d'HDR peut laisser perplexe ses lecteurs quant au sens que j'ai employé pour lister une progression de développement. Si la conception d'un capteur électrochimique démarre à la pailleasse par la mise au point d'une électrode de travail et d'un procédé analytique pour se poursuivre par la fabrication d'un prototype et son déploiement dans le milieu d'étude, tel que je me suis d'ailleurs attachée à l'illustrer dans ce manuscrit, l'orientation de ma carrière, elle, se dirige bien du capteur à haut niveau de maturité pour revenir aux fondamentaux : les matériaux d'électrodes, leur élaboration et leur caractérisation.

Après un parcours universitaire en chimie analytique à l'Université Paul Sabatier (UPS) de Toulouse (2000-2004) et un Master 2 en Physicochimie Analytique à l'Université Pierre et Marie Curie de Paris VI (2004-2005), j'ai réalisé mon doctorat au Laboratoire de Génie Chimique (LGC) de l'UPS dans l'équipe Capteurs Electrochimiques et Procédés sous la direction de Pierre Gros (soutenue le 6 Décembre 2008). Les objectifs de ma thèse, financée par les Laboratoires Pierre Fabre, était notamment de mettre au point un procédé électrochimique d'analyse de la capacité antioxydante de crèmes dermocosmétiques et de rendre compte de la réactivité de ces milieux complexes. Les bases théoriques et le savoir-faire expérimental et méthodologique, acquis au cours de ma thèse, sont présentés au Chapitre I de mon manuscrit.

Suite à mon doctorat, j'ai rejoint en janvier 2011 le Laboratoire d'Etudes en Géophysique et Océanographie Spatiales (LEGOS) en tant qu'Ingénieure de Recherche (2 années en CDD avant l'obtention du concours CNRS en décembre 2012) et chef du projet ANESIS pour Autonomous Nutrients Electrochemical Sensor *In Situ*. J'ai participé et cogérais les projets :

- 2009-2013 : **MAISOE** (Microlaboratoires d'Analyses *In situ* pour des Observatoires Environnementaux - RTRA-STAE),
- 2009-2013 : **SenseNET** (International Sensor Development Network - UE FP7, Initial Training Network Marie Curie),
- 2013-2017 : **ICE-ARC** (Ice, Climate, Economics – Arctic Research on Change - UE FP7).

Depuis ma titularisation au CNRS (fin 2012), j'ai déposé, animé et géré à part entière les projets européens (FP7, H2020), nationaux (RTRA-STAE, ANR) et contrat industriel suivants :

- 2013-2017 : **SenseOCEAN** (WP co-leader, Ocean of Tomorrow - UE FP7),
- 2013-2017 : **MIACTIS** (Microsystèmes intégrés pour l'analyse de composés en traces *in-situ* - Chantier Instrumentation et Capteurs Environnementaux du RTRA-STAE)
- 2014 (7 mois) : projet de collaboration avec **Véolia Environnement Recherche Innovation**
- 2018-2021 : **OCEANSensor** (WP leader, Call MarTERA - UE H2020/ANR),
- 2020-2024 : **NAUTILOS** (Sub-task leader, New Approach to Underwater Technologies for Innovative, Low-cost Ocean obServation - UE H2020).

Au cours de ces projets, j'ai encadré 7 post-doctorants entre 2014 et 2022 avec des taux d'encadrement compris entre 70 et 100 %, représentant 0,92 équivalent temps plein par an. J'ai également dirigé 3 stages IUT Mesures Physiques de l'UPS. Pendant 10 années, j'ai œuvré à la mise au point de capteurs électrochimiques pour l'océanographie. Le Chapitre II détaille la progression des développements, du principe de mesure jusqu'aux déploiements des capteurs en haute mer.

En 2018, mes activités de recherche ont marqué un tournant de par ma volonté de revenir à des thématiques de recherche plus fondamentales, centrées sur des niveaux de maturité technologique (TRL : Technology Readiness Level) plus bas ($TRL < 4$). Un projet sur la détection électrochimique des nitrates dans l'eau de mer : NESS (Nitrate Electrochemical SenSor) a initié cette transition et m'a permis d'établir une collaboration avec l'équipe Procédés Electrochimiques et Sels Fondus du LGC qui s'est concrétisée par l'obtention d'une bourse de thèse co-financée par la Région Occitanie et nke Instrumentation (PME française basée à Hennebont) dont les résultats sont exposés au chapitre III. Dans le cadre de ce projet NESS, j'ai co-dirigé (encadrement : 50 %) la thèse de Sherif Abed (2019-2022) et co-encadré (à 50%) les stages Master 2 Génie des Procédés et BioProcédés – Procédés pour la Chimie, l'Environnement et l'Energie (GPBP-PCE2) de Sherif Abed (2019) et d'Alexandra Brusq (2022).

Mon intégration officielle au LGC en 2021 me permet aujourd'hui d'entrevoir et de mettre en action de nouvelles perspectives de recherche et de collaboration au sein du département Procédés Electrochimiques du laboratoire, centrées sur l'élaboration de nouveaux matériaux d'électrodes pour des applications diverses. Ces nouvelles activités de recherche et perspectives pour les futures années sont discutées en fin de manuscrit.

Chapitre I :
Les procédés électrochimiques pour l'analyse
de milieux complexes

Chapitre I : Les procédés électrochimiques pour l'analyse de milieux complexes

I – Détermination du mécanisme d'oxydation d'une molécule modèle	4
II – Association d'antioxydants : étude électrochimique en milieux homogènes et hétérogènes.....	8
II.1 – Associations en milieux homogènes.....	9
II.1.1 - Milieu aqueux	9
II.1.2 - Milieu organique.....	10
II.2 – Associations en milieu hétérogène : étude à l'interface liquide/liquide	11
II.3 – Echelle redox expérimentale.....	13
III – Etude électrochimique de milieux complexes.....	14
IV – Conclusions	16
Références bibliographiques.....	17

L'objectif de ce chapitre est de présenter les acquis de ma thèse et notamment les bases théoriques de l'électrochimie (voltammétrie cyclique, voltammétrie à convection forcée, chronoampérométrie) et le savoir-faire expérimental (expériences de transfert de film, analyses de milieux hétérogènes (interface liquide/liquide), de milieux réels) qui ont été mis à contribution dans la suite de ma carrière en tant qu'ingénieure de recherche CNRS en BAP C : Développement en expérimentation.

J'ai réalisé ma thèse au Laboratoire de Génie Chimique (LGC) dans l'équipe Capteurs Electrochimiques et Procédés sous la direction de Pierre Gros, financée par les Laboratoires Pierre Fabre Dermocosmétiques. Mon sujet de thèse, s'intitulant « Etude électrochimique de molécules antioxydantes et de leur association en milieux homogène et biphasique – Application aux produits dermocosmétiques », portait sur les problématiques de lutte contre le stress oxydatif cutané au moyen de crèmes dermocosmétiques implémentées de molécules antioxydantes.

L'élaboration de formulations dermocosmétiques est un procédé empirique où les molécules sont choisies en fonction de leurs propriétés individuelles sans considérer les réactivités entre ces molécules au sein d'une émulsion complexe. Mon travail a consisté à développer des outils et méthodes électrochimiques simples, afin de proposer une base scientifique de raisonnement pour une optimisation des formulations cosmétiques. Pour cela, j'ai suivi une approche séquentielle en partant de l'élucidation du mécanisme d'oxydation d'une molécule d'intérêt puis en complexifiant progressivement le milieu jusqu'à l'obtention d'une composition proche d'une crème cosmétique commerciale afin de mettre en évidence les mécanismes réactionnels entre les antioxydants au sein même de ces milieux complexes.

I – Détermination du mécanisme d'oxydation d'une molécule modèle

La démarche d'analyse mise au point (Figure I - 1) a été appliquée pour déterminer les propriétés électrochimiques d'une molécule d'intérêt basée sur l'étude de l'influence des paramètres chimiques (pH, concentration) et électrochimiques (matériau d'électrode, potentiel, vitesse de balayage, convection...) sur le signal électrochimique du système. La molécule antioxydante cible choisie pour ce travail est le thiol N-Acétyl-L-Cystéine (NAC) reconnu pour ses propriétés antioxydantes dans l'objectif

à terme de l'utiliser comme principe actif dans les crèmes cosmétiques luttant contre le stress oxydant [1-5].

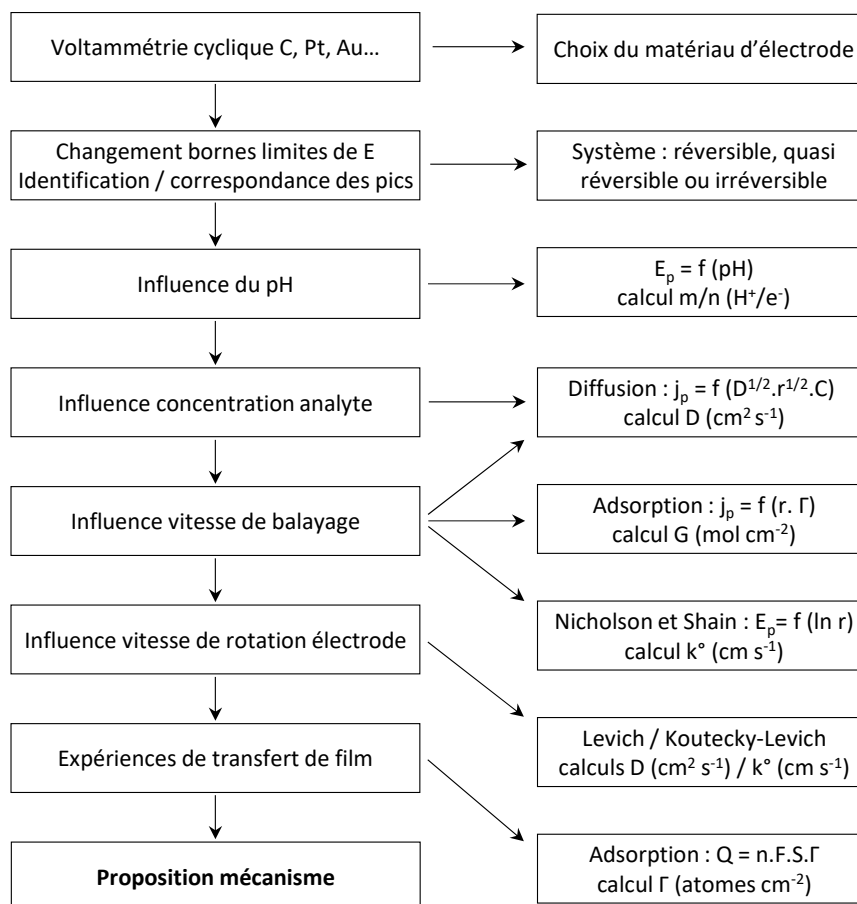


Figure I - 1 : Démarche analytique pour caractériser un système et déterminer son mécanisme d'oxydo-réduction

La voltammétrie est la technique la plus largement employée pour caractériser un système électrochimique. Elle permet d'acquérir rapidement des informations sur les processus redox, sur la cinétique des réactions de transfert électronique hétérogène, de mettre en évidence l'existence de réactions chimiques couplées ou encore de processus d'adsorption [6].

La voltammétrie cyclique consiste en un balayage linéaire de potentiel jusqu'à une borne supérieure (cycle aller) puis inversion de celui-ci jusqu'à une borne inférieure (cycle retour) et de mesurer la réponse en courant correspondante (intensité : I en A) ou densité de courant ($j = I/S$ en A cm⁻², avec S : la surface de l'électrode). Le potentiel de départ du cycle est préférablement choisi lorsque le système est à l'équilibre et que l'intensité est nulle afin de s'assurer qu'aucune réaction électrochimique n'ait lieu au début du tracé de la courbe intensité-potentiel.

L'application de la démarche analytique pour l'étude de la molécule modèle N-Acétyl-L-Cystéine a permis de montrer que le système est totalement irréversible avec une forte influence du pH sur le mécanisme d'adsorption impactant directement le mécanisme d'oxydation de cette molécule. Sur les voltammogrammes cycliques de la Figure I - 2, 2 pics d'oxydation sont observés à pH acide et neutre alors que seul le 2^{ème} pic (ou post-pic), contrôlé par l'adsorption, est visible aux pH basiques. Le pic 1 est quant à lui contrôlé par la vitesse de diffusion de la NAC en solution. Ce comportement est caractéristique d'un réactif fortement adsorbé à la surface de l'électrode. L'espèce adsorbée étant plus stable que l'espèce en solution, son oxydation demande plus d'énergie et donc l'application d'une surtension plus élevée que pour le pic correspondant à l'oxydation de l'espèce dissoute. Les potentiels du pic de diffusion ($\text{Red}_{\text{dissous}} = \text{Ox} + n\text{e}^-$) et du post-pic d'adsorption ($\text{Red}_{\text{ads}} = \text{Ox} + n\text{e}^-$) étant très proches, un traitement du signal (déconvolution) a été nécessaire et effectué sur l'ensemble des voltammogrammes enregistrés. Les intensités de pic présentées dans ce chapitre (ex : insert Figure I - 1) ont donc été toutes mesurées sur les signaux déconvolués à l'aide du logiciel Origin.

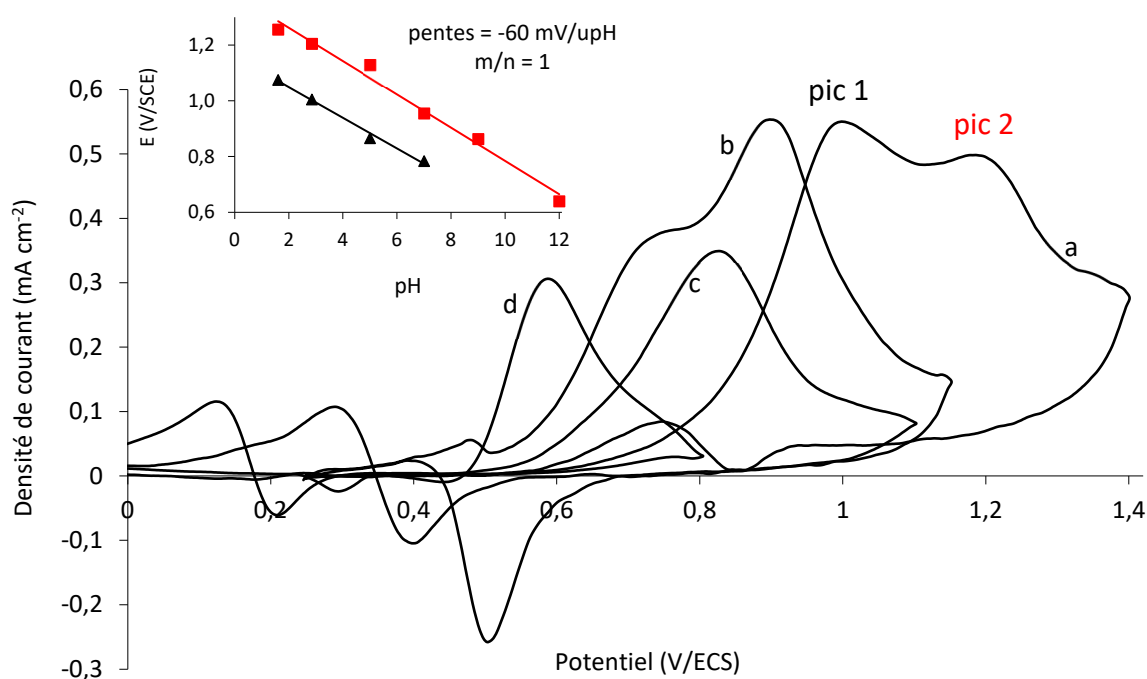


Figure I - 2 : Voltammogrammes cycliques (50 mV s^{-1}) enregistrés sur une électrode d'or dans des solutions désaérées phosphatées ($0,1 \text{ mol L}^{-1}$) de NAC ($10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$) de (a) pH = 1,6, (b) pH = 7, (c) pH = 9 et (d) pH = 12 – Insert : Variation du potentiel de pic avec le pH (▲) pic 1, (■) pic 2

Le phénomène d'adsorption a également été caractérisé par des expériences de transfert de film qui consistent à immerger l'électrode d'or (sans polarisation) dans une solution de NAC puis rincer à l'eau distillée et sécher l'électrode, celle-ci est ensuite transférée dans un électrolyte support (sans NAC) et une voltammétrie cyclique est tracée. L'adsorption de la NAC est spontanée et très rapide : 30 secondes d'immersion suffisent pour observer le signal de la NAC adsorbée. Après une chimisorption d'une monocouche de NAC maintenue par des interactions très fortes avec l'or, une deuxième structure/couche de NAC s'assemble plus lentement résultant d'interactions plus faibles de type liaisons hydrogènes ou électrostatiques.

Enfin, les expériences réalisées en condition de régime stationnaire (convection contrôlée) ont montré que la première étape de réduction (Pic 1), bien que limitée par la diffusion de la NAC en solution ne vérifie pas l'équation de Levich (Eq. I-1), illustrant la complexité du système. La présence de pics a également été remarquée au lieu des paliers de diffusion attendus en régime stationnaire. En revanche, l'équation de Koutecky-Levich ($j^{-1} = f(\omega^{-1/2})$, Eq. I-2) est vérifiée, impliquant donc une réaction chimique couplée et/ou la formation d'un intermédiaire réactionnel dans le mécanisme d'oxydation de la NAC.

$$\text{Levich : } j_{lim} = 0,62 \cdot n \cdot F \cdot D_{Red}^{2/3} \cdot \omega^{1/2} \cdot \nu^{-1/6} \cdot C_{Red}^{sol} \quad (I-1)$$

$$\text{Koutecky-Levich : } \frac{1}{j} = \frac{1}{j_k} + \frac{1}{j_{lim}} \quad \text{où } j_k = F \cdot C \cdot k^0 \cdot \exp\left(\frac{\alpha F}{RT}(E-E^0)\right) \quad (I-2)$$

avec j_{lim} la densité de courant limite (Levich), j_k la densité de courant en l'absence de tout effet de transport de masse, suggérant l'existence d'une étape lente dans la réaction de transfert électronique, n le nombre d'électron échangé, F la constante de Faraday, D le coefficient de diffusion, ω la vitesse de rotation de l'électrode tournante, ν la viscosité cinématique de la solution, C la concentration du réducteur en solution, k^0 la constante de vitesse hétérogène standard, α le coefficient de transfert anodique, E le potentiel d'électrode et E^0 le potentiel standard apparent.

L'ensemble des résultats et conclusions obtenus est rassemblé sur la Figure I - 3 et a permis de proposer le mécanisme d'oxydation de la NAC (Figure I - 3, colonne de droite), notée ici RSH pour faire apparaître le groupement thiol (-SH) [7].

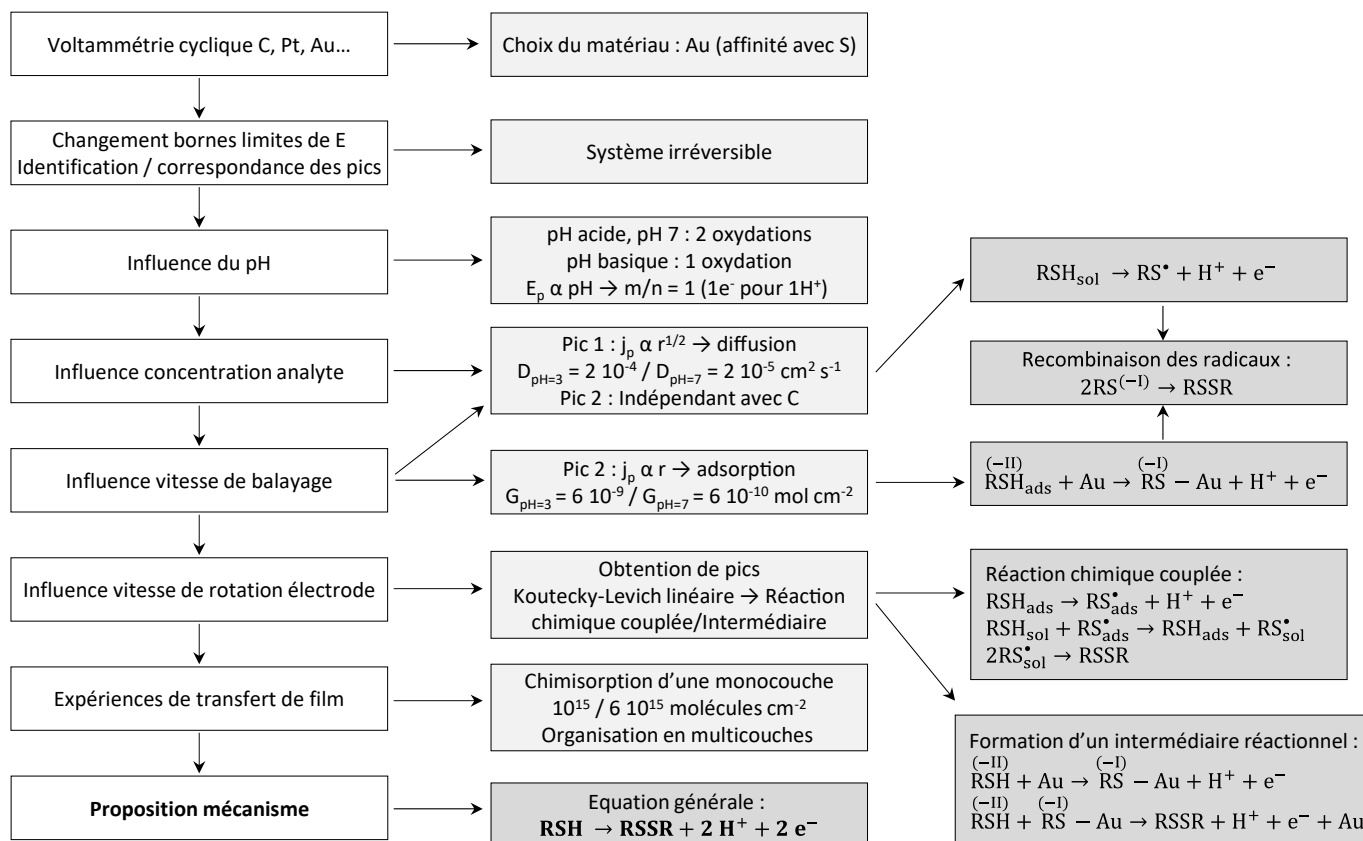


Figure I - 3 : Propriétés électrochimiques de la N-Acétyle-L-Cystéine et mécanisme d'oxydo-réduction

II – Association d'antioxydants : étude électrochimique en milieux homogènes et hétérogènes

La deuxième partie de mon travail de thèse concernait l'étude de la réactivité entre antioxydants associés en milieux homogènes aqueux et organique puis en milieu hétérogène biphasique. Des phénomènes de régénération ont été mis en évidence à l'aide de la voltammétrie cyclique et de la chronoampérométrie. La chronoampérométrie ou électrolyse à potentiel imposé correspond à la réponse en intensité obtenue au cours du temps suite à l'application d'un potentiel constant.

L'objectif était de proposer une méthode simple, directe et rapide de mise en œuvre, de recherche d'associations pertinentes de molécules antioxydantes qui rend compte des phénomènes de régénération spontanée au sein de solutions aqueuses, organiques, aux interfaces liquide-liquide (milieu hétérogène biphasique) ou encore au sein d'émulsions complexes.

II.1 – Associations en milieux homogènes

Dans un premier temps des associations d'antioxydants ont été réalisées en milieux homogènes aqueux d'une part et organiques d'autre part et étudiées par voltammétrie cyclique.

II.1.1 - Milieu aqueux

Un exemple du signal électrochimique obtenu pour l'association de la NAC avec le polyphénol épigallocatechine gallate (EGCG), antioxydant naturellement présent dans le thé [8-10] ou le vin [11], est présenté sur la Figure I - 4. Alors que la concentration en EGCG était maintenue constante, une augmentation de la concentration en NAC en solution a entraîné une augmentation du signal de l'EGCG (Figure I - 4, Insert) indiquant que celle-ci a été régénérée par la NAC.

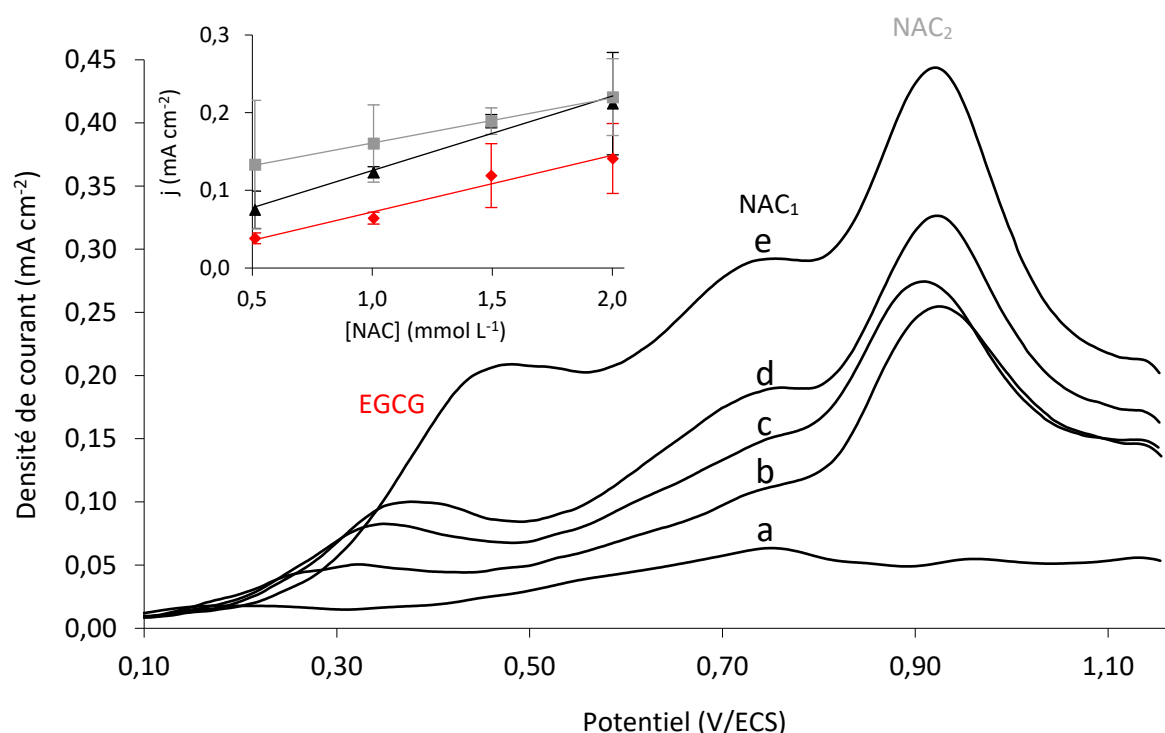


Figure I - 4 : Voltammogrammes aller (50 mV s^{-1}) enregistrés sur une électrode d'or dans une solution désaérée tamponnée de phosphate ($0,1 \text{ M}$) à pH 7 avec (a) EGCG (10^{-3} M) ; (b) EGCG (10^{-3} M) + NAC ($5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$) ; (c) EGCG (10^{-3} M) + NAC (10^{-3} M) ; (d) EGCG (10^{-3} M) + NAC ($1,5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) and (e) EGCG (10^{-3} M) + NAC ($2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) (courant résiduel soustrait) – Insert : Variation de la densité de courant (signaux déconvolués) avec la concentration en NAC, (♦) pic EGCG ($E_p = 0,4 \text{ V}$), (▲) pic1 NAC ($E_{p1} = 0,75 \text{ V}$) et (■) pic2 NAC ($E_{p2} = 0,90 \text{ V}$)

II.1.2 - Milieu organique

Une étude similaire a été réalisée en milieu homogène organique composé de dichlorométhane avec $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de perchlorate de tétrabutylammonium (TBAP) comme électrolyte support. La vitamine E ou α -tocophérol (Vit E), antioxydant lipophile largement utilisé dans les crèmes dermocosmétiques [12-14], est associée au butylhydroxytoluène (BHT), antioxydant lipophile synthétique utilisé comme conservateur dans les produits cosmétiques et agroalimentaires [15].

Les résultats obtenus sur la Figure I - 5 montrent une augmentation linéaire du signal du BHT alors que sa concentration était maintenue constante en solution, lorsque la concentration en Vit E augmente, indiquant que le BHT a été régénéré par la Vit E. L'association BHT, Vit E dans les crèmes dermocosmétiques n'est donc pas pertinente puisque la molécule introduite soi-disant pour ses propriétés conservatrices (BHT) est en fait régénérée par la Vit E introduite à la base en tant que principe actif (molécule d'intérêt).

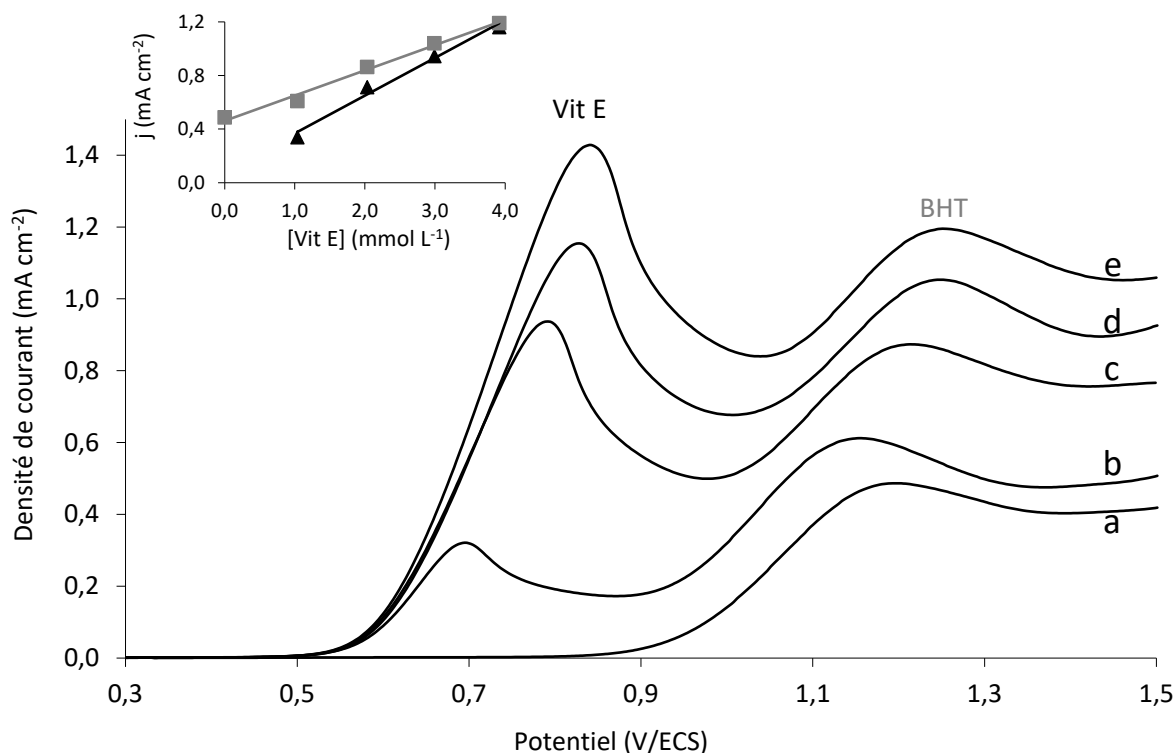


Figure I - 5 : Voltammogrammes aller (50 mV s^{-1}) enregistrés sur une électrode d'or dans $0,1 \text{ M TBAP}$ dans du dichlorométhane avec (a) BHT (10^{-3} M) ; (b) BHT (10^{-3} M) + Vit E (10^{-3} M) ; (c) BHT (10^{-3} M) + Vit E ($2 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) ; (d) BHT (10^{-3} M) + Vit E ($3 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) and (e) BHT (10^{-3} M) + Vit E ($4 \cdot 10^{-3} \text{ M}$) (courant résiduel soustrait) – Insert : Variation de la densité de courant (signaux déconvolués) avec la concentration en Vit E, (\blacktriangle) pic Vit E ($E_p = 0,76 \text{ V}$) et (\blacksquare) pic BHT ($E_p = 1,20 \text{ V}$)

II.2 – Associations en milieu hétérogène : étude à l'interface liquide/liquide

Le milieu biphasique utilisé était composé d'une interface eau/dichlorométhane non miscible. La surface de l'électrode de travail en or était entièrement recouverte d'un film de dichlorométhane organique ($400 \mu\text{L}$) tandis que la référence et la contre-électrode étaient immergées dans la phase aqueuse.

Le transfert électronique en milieu hétérogène s'accompagne d'un transfert ionique au travers de l'interface liquide/liquide afin de rétablir l'électroneutralité de la solution biphasique [16,17]. En effet, lors d'une réaction d'oxydation ($\text{Red} = \text{Ox} + n e^-$), un électron est capté par l'électrode de travail placée en phase organique. La contre-électrode cède quant à elle un électron dans la phase aqueuse. La phase organique est donc déficitaire d'une charge négative et la phase aqueuse est en excès. Le transfert d'un anion de la phase aqueuse vers la phase organique rétablit ainsi l'électroneutralité de la solution. Le même anion (perchlorate : ClO_4^-) a donc été utilisé dans les électrolytes supports de la phase

organique (0,1 M de perchlorate de tétrabutylammonium, TBAP) et de la phase aqueuse (1 M de perchlorate de sodium monohydraté, NaClO_4 , H_2O). La concentration en ClO_4^- utilisée, 10 fois supérieure dans la phase aqueuse que dans la phase organique, permet d'accélérer la vitesse globale du processus électrochimique (réactions de transferts électronique et ionique) [18,19].

La chronoampérométrie a été préférée pour l'étude de l'interface liquide-liquide car elle offre une fenêtre de temps de mesure plus large. En effet, il faut laisser le temps à la molécule lipophile oxydée à la surface de l'électrode de diffuser dans la phase organique jusqu'à l'interface liquide-liquide où elle est potentiellement régénérée par réaction chimique spontanée avec l'antioxydant hydrophile placé dans la phase aqueuse (Figure I - 6).

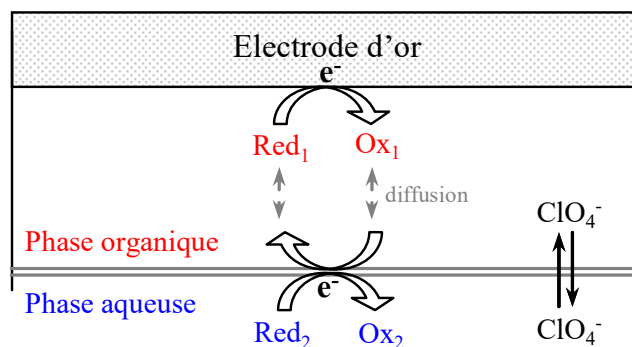


Figure I - 6 : Schéma de l'interface électrode / phase organique / phase aqueuse

Des électrolyses de 2000 s ont été réalisées au potentiel d'oxydation de l'espèce lipophile en solution organique. Dans ces conditions, la totalité de l'antioxydant lipophile est oxydé puisque : $Q_{exp} = \int_0^t I \cdot dt \approx Q_{théorique} = N_{Red} \cdot n \cdot F$ (avec N_{Red} : le nombre de moles de l'antioxydant, n : le nombre d'électrons échangés par nombre de moles d'antioxydant et F : la constante de Faraday). La charge obtenue pour l'association de 2 antioxydants a été comparée à la charge obtenue lorsqu'uniquement un antioxydant lipophile était introduit dans la phase organique et seul l'électrolyte support était présent en phase aqueuse. Pour s'affranchir de la contribution de la présence de molécules hydrophiles dans la phase organique du fait d'un coefficient de partage non nul, la charge résiduelle, enregistrée lorsqu'un antioxydant hydrophile était introduit dans la phase aqueuse et seul l'électrolyte était présent en phase organique, a été soustraite.

Grace à ce dispositif électrochimique simple, des phénomènes de régénération à l'interface liquide/liquide ont pu être mis en évidence. Par exemple l'Acide Ascorbique (AA) a contribué à

augmenter le signal de la Vitamine E, lipophile, d'environ 40 % lorsque l'AA était introduit dans la phase aqueuse. La Vitamine E a donc été régénérée par l'Acide Ascorbique à l'interface liquide/liquide [20].

II.3 – Echelle redox expérimentale

En combinant l'ensemble des résultats obtenus en solutions homogènes et hétérogènes, il a été possible de placer les différents couples redox étudiés sur une échelle de potentiel expérimentale rendant compte de leur réactivité relative (Figure I - 7) [20]. Cette échelle a permis ainsi de choisir des associations pertinentes, favorisant la régénération d'une molécule choisie pour des applications dans les crèmes dermocosmétiques ou en agroalimentaires.

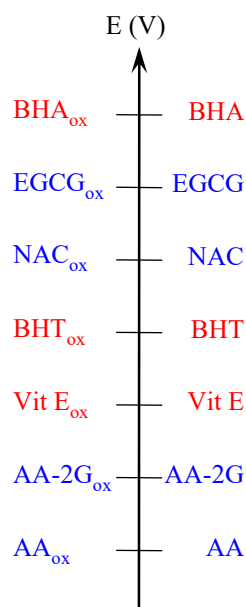


Figure I - 7 : Echelle de potentiel expérimentale pour quelques antioxydants hydrophiles (en bleu) et lipophiles (en rouge) – BHA : Butylhydroxyanisole, AA-2G : Ascorbyl Glucoside (dérivé d'acide ascorbique) [20]

III – Etude électrochimique de milieux complexes

La dernière étape de mon travail de thèse a permis de valider l'échelle redox expérimentale au sein d'émulsions complexes dont la composition était simplifiée par rapport à une crème dermocosmétique commerciale [20].

Pour cela, les crèmes utilisées ont été préparées spécialement par les laboratoires Pierre Fabre Dermocosmétique. Les émulsions étudiées étaient de type huile dans l'eau. La phase huileuse (lipophile) était donc encapsulée à l'intérieur de micelles, la phase aqueuse étant à l'extérieur des micelles. Les antioxydants hydrophiles étaient donc en contact direct avec la surface de l'électrode d'or contrairement aux antioxydants lipophiles.

La crème dite Témoin était constituée uniquement des éléments constitutifs de l'émulsion (sans antioxydant) alors que les autres crèmes étaient constituées d'un (crème A) ou plusieurs (crème B) antioxydants lipophile ou hydrophile (toujours sur la même base de formulation que la crème Témoin). Les mêmes quantités d'antioxydants ont été introduites dans les crèmes A et B. Le schéma de la cellule électrochimique mise au point pour cette étude est présenté sur la Figure I - 8.

Le voltammogramme cyclique et le chronoampérogramme obtenus pour la crème A contenant de la NAC à 0,1% ont montré des signaux électrochimiques caractéristiques de l'oxydation de la NAC à la surface de l'électrode d'or alors qu'aucun signal (courant résiduel uniquement) n'a été enregistré sur la crème Témoin (Figure I - 9).

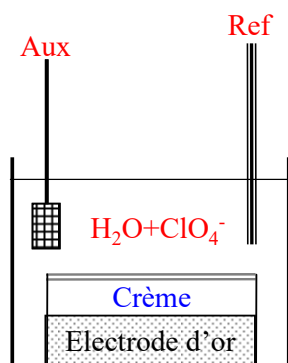


Figure I - 8 : Schéma de la cellule d'étude des crèmes dermocosmétiques

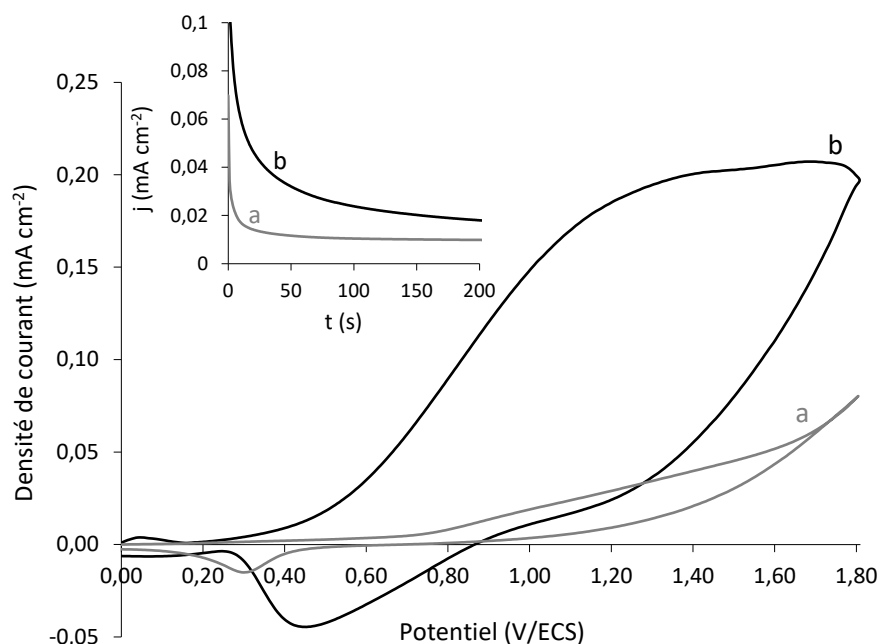


Figure I - 9 : Voltammogrammes cycliques à 100 mV s⁻¹ et Insert : Chronoampérogramme à 1,4 V/ECS, sur électrode d'or recouverte de (a) crème témoin et (b) crème contenant 0,1 % NAC

Des électrolyses ont été réalisées à 1,40 V durant 2000 s (Tableau I-1). Les mêmes phénomènes de régénération que précédemment observés en solutions modèles ont été mis en évidence au sein des crèmes. En effet, les quantités d'électricité obtenues pour les crèmes B contenant 2 antioxydants étaient supérieures à la somme des contributions des crèmes A avec un seul antioxydant, dont l'augmentation en pourcentage a été calculée en utilisant l'équation I-3 (Tableau I-1, 3^{ème} colonne) :

$$\frac{[Q_{\text{crème B}} - Q_{\text{Témoin}}] - \sum [Q_{\text{crème A}} - Q_{\text{Témoin}}]}{\sum [Q_{\text{crème A}} - Q_{\text{Témoin}}]} (\%) \quad (\text{I-3})$$

Tableau I - 1 : Comparaison des quantités d'électricité obtenues après électrolyse à 1,40 V dans les crèmes par rapport à la charge de la crème Témoin et la somme des contributions des crèmes composées d'un seul antioxydant

Crèmes		% Augmentation ($Q_{\text{crème}} - Q_{\text{Témoin}}$) / $Q_{\text{Témoin}}$	% Augmentation $Q_{\text{crème B}} / \Sigma(Q_{\text{crèmes A}})$
A	NAC (0,1 %)	+ 39,3 %	
	AA-2G (0,1 %)	+ 1,9 %	
	Vit E (0,1 %)	+ 19,3 %	
	BHA (0,02 %)	+ 31,2 %	
B	NAC + AA-2G	+ 55,8 %	+ 35,4 %
	NAC + Vit E	+ 74,9 %	+ 27,8 %
	NAC + BHA	+ 86,3 %	+ 22,5 %

IV – Conclusions

L'approche séquentielle d'étude des processus chimiques et électrochimiques proposée pendant ma thèse et la méthodologie que j'ai acquise sont indispensables pour l'analyse qualitative mais également quantitative de molécules cibles présentes dans une matrice réelle, complexe.

Les procédés électrochimiques permettent de développer des méthodes d'analyses directes, simples et rapides de mises en œuvre qui en font une technologie de choix pour le développement d'expérimentations. J'ai mis à profit ce savoir-faire par la suite dans le développement de capteurs électrochimiques notamment dans le domaine de l'environnement marin pour la conception de capteurs intégrés, autonomes, pour la détection de molécules d'intérêts en océanographie.

Références bibliographiques

- [1] M. Benrahmoune, P. Thérond, Z. Abedinzadeh ; The reaction of superoxide radical with N-acetylcysteine ; *Free Radical Biology and Medicine* 29 (2000) 775-782.
- [2] O. I. Aruoma, B. Halliwell, B. M. Hoey, J. Butler ; The antioxidant action of N-Acetyl-L-Cysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid ; *Free Radical Biology and Medicine* 6 (1989) 593-597.
- [3] P. N. R. Dekhuijzen ; Antioxidant properties of N-acetylcysteine: their relevance in relation to chronic obstructive pulmonary disease ; *European Respiratory Journal* 23 (2004) 629-636.
- [4] M. Zafarullah, W. Q. Li, J. Silvester, M. Ahmad ; Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions ; *Cellular and Molecular Life Sciences* 60 (2003) 6-20.
- [5] A.-L. Fu, Z.-H. Dong, M.-J. Sun ; Protective effect of N-acetyl-L-cysteine on amyloid beta-peptide-induced learning and memory deficits in mice ; *Brain Research* 1109 (2006) 201-206.
- [6] A. J. Bard, L. R. Faulkner ; *Electrochimie principes, méthodes et applications* Masson, Paris, 1983.
- [7] C. Barus, M. Comtat, P. Gros, S. Daunes-Marion, R. Tarroux ; Electrochemical behaviour of N-acetyl-L-cysteine on gold electrode – A tentative reaction mechanism ; *Electrochimica Acta* 52 (2007) 7978-7985.
- [8] J. J. Dalluge, B. C. Nelson ; Determination of tea catechins ; *Journal of Chromatography A* 881 (2000) 411-424.
- [9] A. Goodwin, C. E. Banks, R. G. Compton ; Electroanalytical sensing of green tea anticarcinogenic catechin compounds: Epigallocatechin Gallate and Epigallocatechin ; *Electroanalysis* 18 (2006) 849-853.
- [10] S. Sang, I. Yang, B. Buckley, C.-T. Ho, C. S. Yang ; Autoxidative quinone formation in vitro and metabolite formation in vivo from tea polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate: Studied by real-time mass spectrometry combined with tandem mass ion mapping ; *Free Radical Biology and Medicine* 43 (2007) 362-371.
- [11] V. Castaignède, H. Durliat, M. Comtat ; Amperometric and potentiometric determination of catechin as model of polyphenols in wines ; *Analytical Letters* 36 (2006) 1707-1720.
- [12] E. Herrera, C. Barbas ; Vitamin E: action, metabolism and perspectives ; *Journal of Physiology and Biochemistry* 57 (2001) 43-56.
- [13] S. A. Jones, F. McArdle, C. I. A. Jack, M. J. Jackson ; Effect of antioxidant supplementation on the adaptive response of human skin fibroblasts to UV-induced oxidative stress ; *Redox Report* 4 (1999) 291-299.
- [14] M. P. Lupo ; Antioxidants and vitamins in cosmetics ; *Clinics in Dermatology* 19 (2001) 467-473.
- [15] C. Chen, A. M. Pearson, J. I. Gray ; Effects of synthetic antioxidants (BHA, BHT and PG) on the mutagenicity of IQ-like compounds ; *Food Chemistry* 43 (1992) 177-183.
- [16] Y. Shao, M. V. Mirkin, J. F. Rusling ; Liquid / Liquid interface as a model system for studying electrochemical catalysis in microemulsions. reduction of trans-1,2-dibromocyclohexane with Vitamin B12 ; *The Journal of Physical Chemistry B* 101 (1997) 3202-3208.

- [17] R. Gulaboski, V. Mirceski, C. M. Pereira, M. N. D. S. Cordeiro, A. F. Fernando, F. Quentel, M. L'Her, M. Lovric ; A Comparative study of the anion transfer kinetics across a water / nitrobenzene interface by means of electrochemical impedance spectroscopy and square-wave voltammetry at thin organic film-modified electrodes ; *Langmuir* 22 (2006) 3404-3412.
- [18] V. Mirceski, F. Scholz ; Reduction of iodine at the organic liquid / aqueous solution / graphite electrode three-phase arrangement ; *Journal of Electroanalytical Chemistry* 522 (2002) 189-198.
- [19] F. Quentel, V. Mirceski, M. L'Her ; Kinetics of anion transfer across the liquid / liquid interface of a thin organic film modified electrode, studied by means of square-wave voltammetry ; *Analytical Chemistry* 77 (2005) 1940-1949.
- [20] C. Barus, F. Wetz-Torond, Yves Brunel and P. Gros ; Electrochemical Study of Antioxidant Regeneration Mechanisms – Application in Dermocosmetics ; *International Journal of Electrochemical Science* 7 (2012) 5429 – 5441.

Electrochemical Study of Antioxidant Regeneration Mechanisms – Application in Dermocosmetics

Carole Barus¹, Fabienne Wetz-Torond², Yves Brunel² and Pierre Gros^{1,*}

¹ Université de Toulouse, Laboratoire de Génie Chimique UMR CNRS/INP/UPS 5503, Université Paul Sabatier, 31062 Toulouse Cedex 9, France.

² Laboratoire de Pharmacochimie Pierre Fabre Dermo-Cosmétique, Centre de Recherche Pierre Fabre, 3 avenue Hubert Curien, 31035 Toulouse Cedex 1, France.

*E-mail: gros@chimie.ups-tlse.fr

Received: 5 January 2012 / Accepted: 7 May 2012 / Published: 1 June 2012

Oxidative stress is associated to the massive generation of reactive oxygen species inducing fast oxidative reactions in chain. To overcome this problem, reasonable supplementations of antioxidants are widely practiced, mostly based on empirical protocols. An electrochemical process is proposed to choose the best molecules association inducing the greatest antioxidant capacity, by coupling homogeneous or heterogeneous catalytic reactions involving antioxidants with an electrochemical step. Cyclic voltammetry and constant potential electrolysis experiments were used to highlight regeneration reactions induced by specific associations of hydrophilic and lipophilic antioxidants in homogeneous medium or at liquid/liquid interface. Results showed that N-Acetyl-L-Cysteine (NAC) was effectively regenerated by both ascorbic acid (AA) and ascorbyl glucoside (AA-2G) but not by ascorbyl phosphate magnesium (AA-2P). The antioxidant properties of α -tocopherol also increased to 40% when associated with AA. The process was successfully applied for the first time to the study of simple emulsions. Formulations involving NAC and AA-2G presented the highest synergic effect, the antioxidant capacity being amplified by more than 35%. On the other hand no catalytic mechanism was observed when introducing three antioxidants in the cream because it induced too low reaction kinetics. This electrochemical process can thus be exploited as a tool for the optimisation of “anti-aging” dermocosmetic formulations.

Keywords: electrochemical process – antioxidant capacity – catalytic mechanism – liquid/liquid interface – dermocosmetics.

1. INTRODUCTION

Oxidative stress is the subject of tremendous attention, particularly since the end of the 20th century. It results from an imbalance between the production of oxidizing chemical species and their

effective removal by protective antioxidant molecules and scavenger enzymes. It is associated to the massive generation of reactive oxygen (ROS) and nitrogen (RNS) species inducing fast oxidative reactions in chain [1]. It is now clearly accepted that numerous pathologies and clinical disorders, i.e. aging, cancers, atherosclerosis, degenerative diseases... are directly or indirectly consecutive to continuous and/or repetitive exposure to oxidative stress [2]. Skin is one of the major targets since it provides the first line of defense against external oxidant aggressions such as UV radiations, ozone or chemicals, which contribute to the development of irreversible damages: psoriasis, premature aging, cancers... [3]. To prevent or reduce oxidative stress, reasonable supplementations of antioxidants are widely practiced [4,5]. In dermocosmetic field a large variety of creams or lotions are available on the market. However, the choice of antiradical constituent association to optimise the formulation performances is mostly based on empirical protocols, even if analytical strategies have been developed to detect and assay antioxidant properties in the final product [6,7].

Numerous chemical or biochemical protocols have been developed to evaluate the oxidative damages and antioxidant ability [8]. Several studies have made evidence antioxidant synergy and regeneration effect in antioxidant mixtures containing vitamin E [9-12], β -carotene [13], ascorbic acid [14] or polyphenols [15,16] in various application fields such as clinical biology, pharmaceuticals, cosmetics and food. In most studies the analytical methods involve complex protocols and/or expensive materials such as UV spectrophotometry, IR spectroscopy, oximetry (electron spin resonance), high performance liquid chromatography or laser flash photolysis. Comparatively electrochemistry appears as a convenient way to determine the antioxidant status of a complex medium. Electrochemical techniques (four electrode system, three phase electrode, thin layer voltammetry, scanning electrochemical microscopy...) have been extensively used to study ion and/or charge transfer reactions at the interface between two immiscible electrolyte solutions [17-20]. Some of them have been applied to determine kinetic parameters associated with the oxidation of antioxidants (mainly ascorbic acid) at liquid/liquid interface [21-23]. More recently Bertolino et al. [24] highlighted the synergic effect of selenium with natural and synthetic antioxidants. However all these studies have been developed in model systems and no further experiments have been conducted in real complex media. On the other hand previous works performed in our laboratory have shown the possibility to define an indicator of the antioxidant global properties of real samples like wine, blood serum, skin or cosmetics by direct electrochemical measurements, without any pre-treatment of the samples [25-28]. Another electrochemical study has highlighted an increase in the global antioxidant capacity of a human skin treated by daily application of a dermocosmetic cream containing antioxidants [29]. Recently a catalytic electrochemical / chemical (EC') mechanism of uric acid regeneration by ascorbic acid was demonstrated during the simultaneous assay of both antioxidant markers at the vicinity of a poly(3,4-ethylenedioxythiophene) modified gold electrode surface [30].

In the present work an electrochemical process is proposed to predict reactions induced by the association of antioxidants. Experiments were performed by coupling the electrochemical step with homogeneous or heterogeneous catalytic reactions involving antioxidants [31]. Catalytic currents resulting from cyclic voltammetry and chronoamperometry experiments were exploited to determine redox mechanisms induced by specific associations of hydrophilic and/or lipophilic antioxidants in homogeneous and biphasic (organic/water) media. In this latter case, a thin organic film deposited on

the electrode surface appeared to be a simple and powerful tool to study the electron transfer phenomena at liquid/liquid interface [32-34]. Finally, experiments in dermocosmetic creams were carried out to confirm the results obtained in previous model systems.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Chemicals

Sulphuric acid (H_2SO_4) 95 % w/v, potassium di-hydrogenophosphate (KH_2PO_4), di-potassium hydrogenophosphate (K_2HPO_4), tetrabutylammonium perchlorate ($(\text{Bu})_4\text{NClO}_4$) (TBAP), ascorbic acid (AA) and N-Acetyl-L-Cysteine (NAC) were purchased from Acros Organics. Sodium perchlorate monohydrate ($\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) was obtained from Fluka, dichloromethane (CH_2Cl_2) from VWR and α -tocopherol (Vit. E) from Calbiochem. Finally, dermocosmetic creams, Butylated hydroxyanisole (BHA), 6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT), ascorbyl glucoside (AA-2G) and ascorbyl phosphate magnesium (AA-2P) were made in Pierre Fabre's laboratory.

2.2. Materials

Electrochemical manipulations were performed at constant room temperature (298 K) with an Autolab Metrohm potentiostat interfaced to an HP omni-book XE 4500 microcomputer and using the GPES 4.9 software. A conventional three-electrode system was used for all the experiments. Several gold disks with different sizes were used as working electrodes. Platinum grid acted as counter electrode and the reference electrode was a saturated calomel electrode (SCE) ($\text{Hg}/\text{Hg}_2\text{Cl}_2$, KCl_{sat}) connected to the electrochemical cell by a Luggin capillary. All potentials were expressed versus this electrode. All the solutions were deaerated by bubbling nitrogen for 10 min.

2.2.1. Experiment in homogeneous media (aqueous or organic solutions)

The surface area of the electrode was 0.071 cm^2 . Aqueous solution was 0.1 mol.L^{-1} phosphate buffer (PBS) pH 7. Organic solvent was dichloromethane containing 0.1 mol.L^{-1} TBAP as electrolyte.

2.2.2. Experiment in biphasic media

The surface area of the working electrode was higher than previously (1.96 cm^2) in order to deposit easily the organic film on the electrochemical transducer. Biphasic solutions were basically constituted with $400 \mu\text{L}$ of water-saturated dichloromethane solvent containing 0.1 mol.L^{-1} TBAP as electrolyte and 25 mL of dichloromethane-saturated distilled water containing 1 mol.L^{-1} NaClO_4 as electrolyte. Water was saturated with dichloromethane to prevent dissolution of the organic film into the aqueous phase and vice versa. Lipophilic and hydrophilic antioxidants were added in organic and aqueous phases, respectively. $400 \mu\text{L}$ of the organic phase was necessary to cover the whole electrode surface. Counter and reference electrodes were placed into the aqueous phase without being in contact

with dichloromethane. Bubbling nitrogen directly into bulk solution was not possible because it caused too strong agitation of biphasic medium and destroyed the organic film. Therefore a nitrogen flow was maintained over the solution during all the experiments.

2.2.3. Experiment in creams

The creams studied were specially made by Pierre Fabre. The basic emulsion (background) was an oil phase dispersed in an aqueous phase (Dexeryl®). For other formulations, one or more antioxidants were successively added in the emulsion. The working electrode was the same as that previously used for biphasic media study (1.96 cm²). The electrode surface was covered with a 4 mm thick cream film and the whole was immersed into 25 mL of 1 mol.L⁻¹ NaClO₄ aqueous solution. The counter and references electrodes were placed into the aqueous phase. This configuration was preferred to that used previously by Guitton *et al.* [26] where the 3 electrode system was introduced into bulk creams, which induced in our case a strong ohmic resistance and resulted in irreproducible data. As previously a nitrogen flow was maintained over the solution during all the experiments.

2.3. Electrode activation and signal treatment

The gold electrode surfaces were polished with abrasive paper (262X imperial lapping film sheets) and rinsed with distilled water. Cathodic and anodic polarizations were then performed at -2 V and +2 V successively during 30 sec in 0.5 mol.L⁻¹ H₂SO₄. Finally, cyclic voltammograms were carried out in 0.5 mol.L⁻¹ H₂SO₄ at 200 mV.s⁻¹ between -0.1 V and 1.4 V, until reproducible current-potential curves were obtained.

For all electrochemical measurements the potential range was chosen in order to avoid oxidation and reduction of the solvent. The background current was systematically recorded by plotting the current-potential curve with the supporting electrolyte only. To optimize the exploitation of the numerical data, the background was subtracted from the overall experimental curves by using GPES software. When some close anodic signals were present, peaks were deconvoluted using the Microcal Origin 7.0 software including the peak fitting module [35].

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Catalytic reactions in homogeneous media

Fig. 1 presents cyclic voltammograms recorded in 0.1 mol.L⁻¹ PBS pH 7 containing 1 mmol.L⁻¹ ascorbic acid (AA) (curve a) and 1 mmol.L⁻¹ N-acetyl-L-cysteine (NAC) (curve b). For both curves the background current was subtracted as described in section 2.3. On curve (a), an anodic peak corresponding to AA oxidation was observed at potential around 0.35 V. Two peaks corresponding to NAC oxidation appeared on curve (b) at 0.75 and 0.9 V, respectively. Previous works performed in our laboratory have shown that the first peak (0.75 V) was limited by diffusion of NAC in solution and the

second one (0.9 V) was controlled by adsorption phenomena [36]. For both molecules, no cathodic peak appeared in the reverse scan, indicating the irreversibility of the redox systems. On curve (b), the anodic peak observed at 0.42 V during the backward scan corresponded to the re-oxidation of NAC after the reduction of gold oxides occurring at 0.5 V [36].

Curves (c) to (f) correspond to cyclic voltammograms obtained with solutions containing both NAC and AA. The NAC concentration was kept constant whereas AA concentration increased. Although AA oxidised at lower potential than NAC, no peak was recorded for AA and only both anodic NAC peaks were observed. The strong affinity of NAC for gold and its spontaneous adsorption on electrode surface [36] could explain this phenomenon. To confirm this hypothesis, film transfer experiments were carried out. Briefly, the gold electrode was firstly immersed in 1 mmol.L⁻¹ NAC during 1 hour, rinsed with water and immersed in PBS containing 1 mmol.L⁻¹ AA. Successive cyclic voltammograms were then recorded (results not shown). The first cycle showed the anodic peak at 0.9 V corresponding to adsorbed NAC oxidation, whereas no AA signal was observed, neither on the following cycles. Obviously, the NAC adsorption on the electrode surface prevented AA oxidation. However, current density of both NAC anodic peaks increased linearly with AA concentration (Fig. 1, inset) while NAC concentration was kept constant. This result clearly highlights a catalytic EC' mechanism: NAC is oxidized at the electrode surface and is further regenerated by AA by means of a coupled chemical reaction in solution close to the electrode. Both surface concentration and concentration gradient of NAC are then amplified, thus increasing the anodic current.

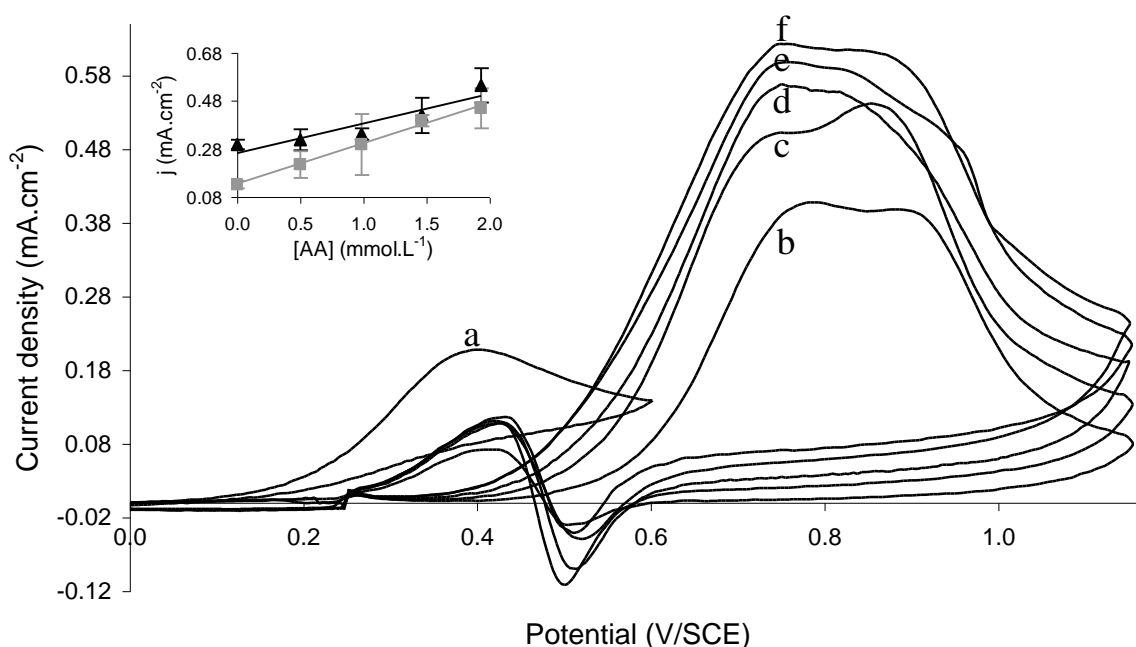


Figure 1. Cyclic voltammograms recorded on gold electrode in 0.1 mol.L⁻¹ deaerated PBS pH 7 containing: 1 mmol.L⁻¹ AA (a); 1 mmol.L⁻¹ NAC (b); 1 mmol.L⁻¹ NAC and AA: 0.2 mmol.L⁻¹ (c); 0.4 mmol.L⁻¹ (d); 0.7 mmol.L⁻¹ (e); 1 mmol.L⁻¹ (f). Scan rate: 50 mV.s⁻¹ (background current subtracted). Inset: variation of NAC oxidation current density with AA concentration. (▲) peak 1 at E = 0.75 V; (■) peak 2 at E = 0.9V

Similar experiments were performed by replacing AA by Ascorbyl Glucoside (AA-2G) and Ascorbyl Phosphate Magnesium (AA-2P) which are two AA derivatives less sensitive to light and oxygen than AA and consequently more commonly used in dermocosmetic formulations. Both species were found to be electrochemically inactive in the experimental conditions adopted (not shown). According to what observed with AA, results obtained in the first case made clearly evidence of a EC' catalytic mechanism between NAC and AA-2G (not shown). However only the NAC oxidation peak at 0.9 V increased with AA-2G concentration, the diffusion controlled current at 0.75 V remaining roughly constant. This could be explained by a lower NAC regeneration reaction rate with AA-2G than with AA, the former being known to present a lower radical scavenging activity [37]. On the contrary, no evolution in the successive voltammograms was recorded when adding AA-2P in NAC solution. Obviously electrostatic hindrance and repulsion phenomena could strongly modify the reactivity as both AA-2P and NAC are negatively charged at pH 7.0 [36]. Consequently AA-2P can be used as antioxygen in dermocosmetics but is not efficient in antioxidant synergy when associated with NAC.

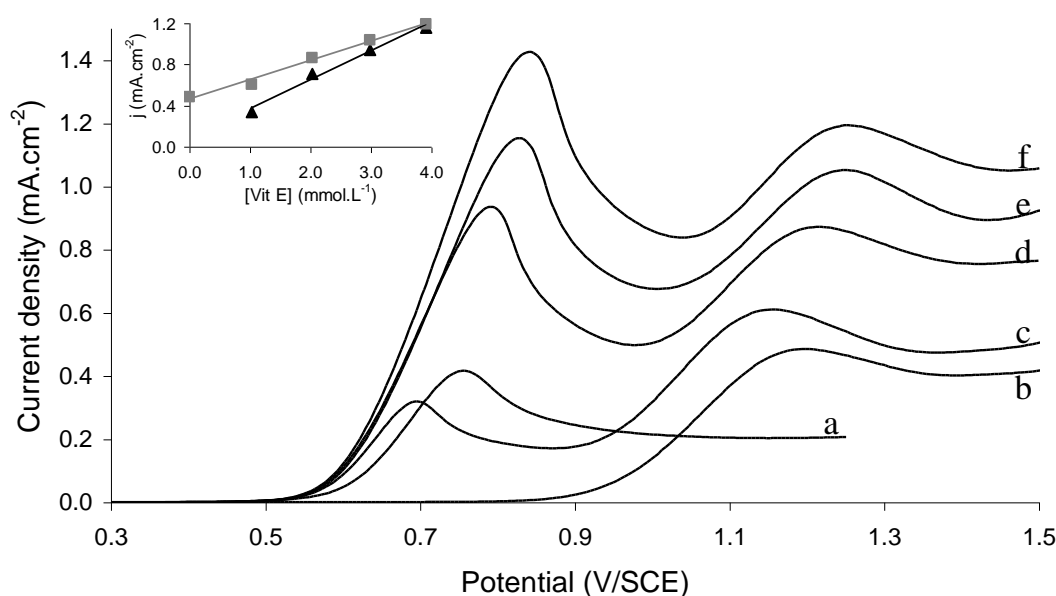


Figure 2. Linear voltammogram recorded on gold electrode in 0.1 mol.L⁻¹ TBAP-dichloromethane containing: 1 mmol.L⁻¹ Vit. E (a); 1 mmol.L⁻¹ BHT (b); 1 mmol.L⁻¹ BHT and Vit. E: 1 mmol.L⁻¹ (c); 2 mmol.L⁻¹ (d); 3 mmol.L⁻¹ (e); 4 mmol.L⁻¹ (f). Scan rate: 50 mV.s⁻¹ (background current subtracted). Inset: Variation of current density with Vit. E concentration. (▲) Vit. E oxidation peak at E = 0.75 V; (■) BHT oxidation peak at E = 1.2 V

The same procedure was exploited in organic solution in order to highlight possible regeneration mechanism between two lipophilic antioxidants. An example is given in Fig. 2 where voltammograms were plotted with Vit. E and 6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT) in 0.1 mol L⁻¹ TBAP-containing dichloromethane. Vit. E and BHT exhibited a single anodic peak around 0.75 V (curve a) and 1.2 V (curve b), respectively. Successive additions of Vit. E into a 1 mmol.L⁻¹ BHT solution resulted in the amplification in both amperometric signals (curves c to f). Current densities measured after signals deconvolution were reported as a function of Vit. E concentration (Fig. 2, inset).

The linear variation of BHT current density while its concentration was kept constant proves its regeneration by chemical reaction with Vit. E in organic solution.

3.2. Catalytic reactions in heterogeneous media

Synergic interactions between lipophilic and hydrophilic antioxidant compounds at liquid/liquid interface have been identified by depositing an organic film on the working electrode surface immersed in aqueous electrolyte. The organic phase was as thin as possible in order to minimize the diffusion barrier while covering entirely the electrode surface (see section 2.2.2) [34]. To ensure efficient regeneration reactions, the hydrophilic antioxidant concentration in the aqueous phase was 10 times higher than the lipophilic species one into organic phase.

The electrochemical device was firstly validated by introducing 1 mmol.L⁻¹ Vit. E (lipophilic) in dichloromethane and 10 mmol.L⁻¹ AA (hydrophilic) in water. Vit. E is known to be regenerated by AA via a spontaneous chemical reaction [38-41]. However the cyclic voltammogram highlighted the same typical shape corresponding to the electrochemical activity of the Vit. E redox system whatever the experiment was realized with or without AA in the aqueous phase (not shown). Obviously the kinetics of the complete diffusion/reaction mechanism was too low to observe the antioxidant regeneration process in the time window used to plot the voltammogram. Consequently constant potential electrolyses were performed afterwards which offers a larger time window enabling slow chemical reactions to be studied. The electrode potential was deduced from previous voltammograms (Fig. 2) and maintained at 0.75 V during 2000 s in order the electrochemical oxidation of Vit. E to be diffusion controlled. Fig. 3 shows the typical chronoamperograms recorded during the first minute for a 1 mmol L⁻¹ Vit. E solution without (curves c) and with (curves d) 10 mmol L⁻¹ AA in aqueous phase, respectively. Similar experiment was performed with only both electrolytes containing no antioxidant compound (Fig. 3 curve a) for background current determination. A fourth electrolysis was realized with AA in the aqueous phase and only dichloromethane without any antioxidant as the organic phase (Fig. 3 curve b). This latter allowed to evaluate a possible contribution of the hydrophilic antioxidant compound which partitioned in organic phase and which could oxidize directly at the electrode surface. Curves obtained in both last cases were close, thus proving that the organic layer effectively prevented the direct AA oxidation at the electrode surface.

For all experiments, the electric charge (Q) was determined by integrating the chronoamperograms during 2000 s according to the Faraday's law. The experimental charge obtained with the 1 mmol.L⁻¹ Vit. E solution (Fig. 3 curve c) was $Q = 0.083 \pm 0.009$ C after subtraction of the background charge. Considering that 2 electrons are exchanged for Vit. E oxidation [42] and assuming a reproducible organic layer deposit without any evaporation of dichloromethane, this value is very close to the theoretical charge ($Q_{\text{theo}} = 0.077$ C), indicating that the whole Vit. E has been consumed. Addition of 10 mmol L⁻¹ AA into aqueous electrolyte significantly increased the electrolysis current (Fig. 3 curve d). After backgrounds subtraction, the electrical charge consumed during 2000 s was 39.8 % higher. The amount of lipophilic antioxidant being the same for both experiments, the enhanced

anodic charge resulted from a heterogeneous chemical reaction between oxidized Vit. E into organic solvent and AA into aqueous phase, leading to the regeneration of Vit. E as expected.

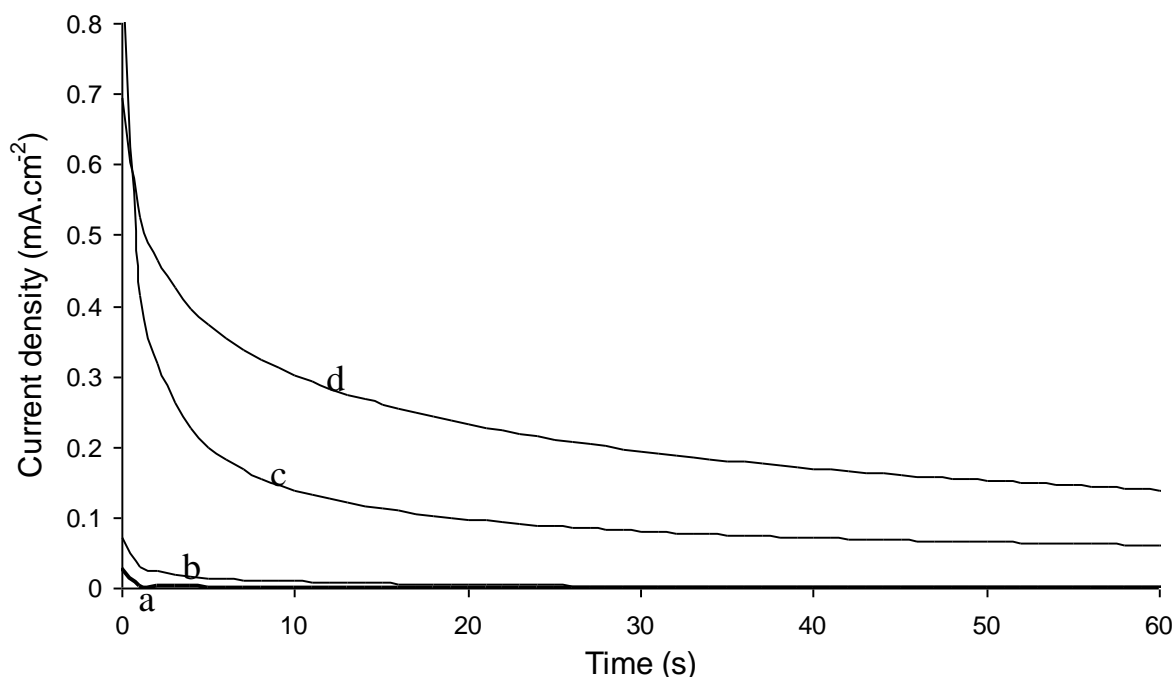


Figure 3. Chronoamperograms recorded on gold electrode (1.96 cm^2) covered with $400 \text{ }\mu\text{l}$ of 0.1 mol.L^{-1} TBAP-containing dichloromethane and immersed in 25 mL of 1 mol.L^{-1} NaClO_4 deaerated aqueous solution (a); with 10 mmol.L^{-1} AA (b); with 1 mmol.L^{-1} Vit. E (c); with 10 mmol.L^{-1} AA and 1 mmol.L^{-1} Vit. E (d). Electrode potential: 0.75 V

The electrochemical device was further exploited to study the synergic effect induced by others lipophilic / hydrophilic antioxidant associations. Three lipophilic antioxidants were used, i.e. Vit. E, Butylated hydroxyanisole (BHA) and BHT. In each case, the working electrode potential applied during the electrolysis (0.75 V , 1.27 V and 1.40 V , respectively) was chosen to ensure their maximal electrochemical oxidation rate and was determined experimentally by recording the cyclic voltammogram in the corresponding solution. It was verified that all three compounds were completely consumed when the electrolysis was performed during 2000 s without hydrophilic antioxidant, as previously explained. Table 1 gives the relative enhancement of the amount of charge ΔQ recorded during the constant potential electrolysis with hydrophilic antioxidant in the aqueous phase. The highest is the charge enhancement, the most efficient is the regeneration mechanism and the best antioxidant capacity. Among hydrosoluble antioxidants tested, AA induced the best synergic effect in association with Vit. E or BHA. Similar spontaneous reactions were also observed, although at a lesser degree, by using AA-2G. This latter result confirms once again that AA-2G presents a lower radical scavenging and antioxidant activity than AA [37]. On the contrary, NAC did not regenerate Vit. E nor BHT while its presence amplified BHA oxidation current. From all these data it is possible to evaluate

the relative reactivity between lipophilic and hydrophilic antioxidants and thus select relevant associations promoting the best antioxidant capacity.

Table 1. Relative enhancement of the electric charge corresponding to the electrochemical oxidation of lipophilic species in the presence of hydrophilic antioxidants. Electrode potential: Vit. E: 0.75 V; BHA: 1.27 V; BHT: 1.40V. Electrolysis time: 2000 s. Others experimental conditions are specified in section 2.2.2.

Lipophilic antioxidant (1 mM)	Hydrophilic antioxidant (10 mM)	ΔQ (%)
Vit E	AA	39.8
	AA-2G	4.9
	NAC	No increase
BHA	AA	8.7
	AA-2G	3.4
	NAC	7.4
BHT	NAC	No increase

3.3. Application in dermocosmetic creams

Several dermocosmetic creams were specially formulated based on a Dexeryl® oil-in-water emulsion (see section 2.2.3). Lipophilic and/or hydrophilic antioxidants were added in the oil and/or the aqueous phase, respectively. Fig. 4 (curve b) shows the cyclic voltammogram obtained with a cream containing 0.1% NAC (w/w). Compared to the basic emulsion (Fig. 4, curve a) an anodic wave corresponding to NAC oxidation was clearly visible despite the very high viscosity of the cream which does not favour high diffusion transfer rate. The current rather resulted from the oxidation of spontaneously adsorbed NAC on gold surface. In the same experimental conditions, no noticeable amperometric signal was recorded by using AA-2G, Vit. E or BHA, although the last two species were electroactive on gold (see section 3.2).

Similarly to those performed for liquid/liquid interface study, electrolyses were then carried out during 2000 s and the electric charge Q_{cream} was recorded. Background charge Q_0 consumed with the basic emulsion was systematically removed from charges obtained with others creams. The working potential electrode was 1.4 V for all experiments in order to ensure the oxidation of the antioxidant species while avoiding oxygen evolution in the aqueous phase. Table 2 shows the charge enhancement resulting from the addition of one (entry 1 to 4) or several (entry 5 to 8) antioxidants in the cream. The electric charges were firstly compared to those obtained with the basic emulsion according to equation (1):

$$\Delta Q_1 = \frac{Q_{\text{cream}} - Q_0}{Q_0} (\%) \quad (1)$$

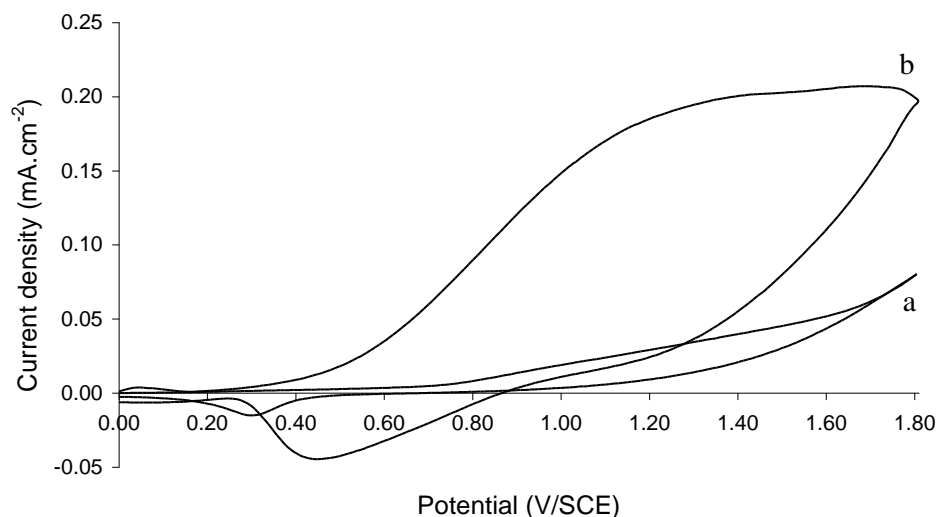


Figure 4. Cyclic voltammograms recorded on gold electrode in Dexeryl cream without (a) and with (b) 0.1 % NAC (w/w). Scan rate: 100 mV.s^{-1}

Table 2. Relative enhancement of the anodic charge consumed during constant potential electrolysis performed in dermocosmetic creams. Electrode potential: 1.4 V; Electrolysis time: 2000 s. Others experimental conditions are specified in section 2.2.3.

Cream composition		ΔQ_1^a (%)	ΔQ_2^b (%)
Water phase	Oil phase		
NAC (0.1 %)		39.3	
AA-2G (0.1 %)		1.9	
	Vit. E (0.1 %)	19.3	
	BHA (0.02 %)	31.2	
NAC (0.1%) + AA-2G (0.1%)		55.8	35.4
NAC (0.1%)	Vit. E (0.1%)	74.9	27.8
NAC (0.1%)	BHA (0.02 %)	86.3	22.5
NAC (0.1 %) + AA-2G (0.1 %)	BHA (0.02 %)	67.6	No increase

^a ΔQ_1 : charge enhancement compared to that obtained with basic emulsion. Calculated from equation (1)

^b ΔQ_2 : charge enhancement compared to the sum of the electric charges recorded with creams, each containing one of the corresponding antioxidants. Calculated from equation (2)

The chronoamperogram obtained with the cream containing AA-2G alone was very similar to that recorded with the basic emulsion. Consequently no change in the electric charge was observed (entry 2). It is not surprising since AA-2G was found to be electroinactive as previously mentioned. For all other formulations an enhanced electric charge was recorded. The lowest difference was obtained with samples containing only lipophilic antioxidants, i.e. Vit. E (entry 3) and BHA (entry 4). The basic emulsion being composed of an oil phase dispersed in an aqueous phase, the organic

compounds are encapsulated inside miscellaneous. Consequently lipophilic redox species could be hardly oxidized directly at the electrode surface. The highest electric charge enhancement has been obtained when more than one antioxidant were introduced into the cream (entry 5 to 8). In order to highlight catalytic phenomena promoted by the antioxidant association, the electric charge recorded Q_{cream2} was in these cases compared to the sum of the electric charge Q_{cream1} obtained with creams, each containing one of the corresponding antioxidants, according to equation (2):

$$\Delta Q_2 = \frac{[Q_{\text{cream2}} - Q_0] - \Sigma[Q_{\text{cream1}} - Q_0]}{\Sigma[Q_{\text{cream1}} - Q_0]} (\%) \quad (2)$$

For example, the charge obtained for the cream containing NAC and AA-2G was 55.8 % higher than that recorded with the basic emulsion (entry 5). The charge enhancement induced by NAC and AA-2G being 39.3 % (entry 1) and 1.9 % (entry 2), respectively, the increase in the electric charge due to catalytic mechanism is $(55.8 - 41.2)/41.2 = 35.4 \%$.

Among the formulations containing more than one antioxidant, that involving NAC+AA-2G presented the highest synergic effect. This is not surprising since two hydrophilic antioxidants were introduced in the aqueous phase which is the major part of the oil-into-water emulsion. Antioxidant regeneration process was also evidenced by introducing a hydrophilic and a lipophilic antioxidant species in the aqueous and the organic phases, respectively. From the experimental results it can be deduced that NAC was regenerated by Vit. E (entry 6) and that the former reacted with BHA (entry 7) as previously mentioned in model liquid/liquid interface (section 3.2.). It is not surprising that the catalytic mechanism was less efficient in both last cases since the electron transfer took place at the oil/water interface. Finally, no synergic effect was observed when three antioxidants (2 hydrophilic, i.e. NAC and AA-2G and 1 lipophilic species, i.e. BHA) were introduced into the cream (entry 8). In this last case the sum of the contribution of each antioxidant (entry 1, 2 and 4, respectively) was higher than the total electric charge Q_{cream2} . The main reason could be that the regeneration process involved two spontaneous redox reactions occurring simultaneously and coupled with the diffusion of BHA inside the organic phase, this latter being oxidized at the electrode surface and regenerated at oil/water interface. This complex EC' mechanism certainly induced too low reaction kinetics to have a real influence on BHA regeneration.

4. CONCLUSION

An electrochemical process has been developed to study antioxidant properties in homogeneous or heterogeneous model systems and in real media. On the one hand, cyclic voltammetry proved to be well adapted to highlight antioxidant regeneration reaction in aqueous and organic homogeneous solutions. AA and AA-2G was thus found to regenerate NAC in the former case whereas Vit. E regenerated BHT in the latter case. On the other hand, constant potential electrolysis was necessary for experiments in biphasic systems and cosmetic emulsions since it offers a larger time window to study lower reaction kinetics. Chronoamperograms thus allowed heterogeneous

catalytic mechanism and antioxidant synergic effect to be clearly highlighted in such complex media. The antioxidant properties of NAC were thus amplified by 35.4%, 27.8% and 22.5% when associated with AA-2G, Vit. E and BHA, respectively. In conclusion electrochemistry appears to be a convenient tool for the optimisation of new “anti-aging” dermocosmetic formulations by helping in the choice of antioxidants molecules and relevant associations to induce the greatest antioxidant capacity. This electrochemical process can now be transposable to determine antioxidant potentialities of other complex media.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was financially supported by Pierre Fabre Dermo-cosmetic laboratories. The authors thank Laurent Massot from Laboratoire de Génie Chimique for the curves deconvolution, Laure Latapie for technical assistance and Maurice Comtat for scientific advices.

References

1. B. Halliwell and J.M.C. Gutteridge, *Free Radicals in biology & medicine*, Oxford University Press, Oxford (1989)
2. T. Finkel and N.J. Holbrook, *Nature*, 408 (2000) 239
3. J.J. Thiele, F. Dreher and L. Packer, *J. Toxicol. Cutan. Ocul. Toxicol.*, 21 (2002) 119
4. A.Kumar, G. Singh, B.V.S. Kumar and S.K. Meur, *Livest. Sci.*, 138 (2011) 299
5. K. Ezzedine, J. Latreille, E. Kesse-Guyot, P. Galan, S. Hercberg, C. Guinot and D. Malvy, *Eur. J. Cancer*, 46 (2010) 3316
6. J.F. Garcia-Jimenez, M.C. Valencia and L.F. Capitan-Vallvey, *J. Chromatogr. Sci.*, 47 (2009) 485
7. T-F. Tsai and M-R Lee, *Chromatogr.*, 67 (2008) 425
8. Z-Q. Liu, *Chem. Rev.*, 110 (2010) 5675
9. E.U. Nwose, H.F. Jelinek, R.S. Richards and P.G. Kerr, *Med. Hypotheses*, 70 (2008) 1002
10. K. Mukai, T. Isozaki and S-I. Nagaoka, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 80 (2007) 1331
11. P. Pedrielli and L.H. Skibsted, *J. Agric. Food Chem.*, 50 (2002) 7138
12. S-I. Nagaoka, M. Inoue, C. Nishioka, Y. Nishioku, S. Tsunoda, C. Ohguchi, K. Ohara, K. Mukai and U. Nagashima, *J. Phys. Chem. B*, 104 (2000) 856
13. R. Liang, C-H. Chen, R-M. Han, J-P. Zhang and L.H. Skibsted, *J. Agric. Food Chem.*, 58 (2010) 9221
14. J.M. Irache, I. Ezpeleta and F.A.Vega, *Chromatogr.*, 35 (1993) 232
15. F. Dai, W-F. Chen and B. Zhou, *Biochimie*, 90 (2008) 1499
16. K. Omura, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 72 (1995) 1565
17. Z. Samec, V. Marecek, J. Koryta and M. W. Khalil, *J. Electroanal. Chem.*, 83 (1977) 393
18. C. Wei, A. J. Bard and M. V. Mirkin, *J. Phys. Chem. B*, 99 (1995) 16033
19. M. Donten, Z. Stojek and F. Scholz, *Electrochem. Commun.*, 4 (2002) 324
20. F. Quentel, V. Mirceski, M. L'Her, M. Mladenov, F. Scholz and C. Elleouet, *J. Phys. Chem. B*, 109 (2005) 13228
21. T. Sugihara, T. Kinoshita, S. Aoyagi, Y. Tsujino, and T. Osakai, *J. Electroanal. Chem.*, 612 (2008) 241
22. X. Lu, L. Hu and X. Wang, *Electroanalysis*, 17 (2005) 953
23. T. Osakai, H. Jensen, H. Nagatani, D.J. Fermin and H.H. Girault, *J. Electroanal. Chem.*, 510 (2001) 43
24. F.A. Bertolino, P.W. Stege, E. Salinas, G.A. Messina and J. Raba, *Anal. Lett.*, 43 (2010) 2078
25. V. Castaignede, H. Durliat and M. Comtat, *Anal. Lett.*, 36 (2003) 1707

26. C. Guittion, P. Gros, M. Comtat, R. Tarroux and P. Bordat, *J. Cosmet. Sci.*, 56 (2005) 79
27. A. Ruffien-Ciszak, P. Gros, M. Comtat, A.-M. Schmitt, E. Questel, C. Casas and D. Redoules, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 40 (2006) 162
28. F. Sekli-Belaidi, P. Temple-Boyer and P. Gros, *J. Electroanal. Chem.*, 647 (2010) 159
29. A. Ruffien-Ciszak, J. Baur, P. Gros, E. Questel and M. Comtat, *IRBM*, 29 (2008) 162
30. F. Sekli-Belaidi, D. Evrard and P. Gros, *Electrochem. Commun.*, 13 (2011) 423
31. H. H. Girault and D. J. Schiffrin, in *Electroanalytical Chemistry*, ed. A. J. Bard. Marcel Dekker, New York (1989)
32. C. Shi and F. C. Anson, *J. Phys. Chem. B*, 102 (1998) 9850
33. Y. Shao, M. V. Mirkin and J. F. Rusling, *J. Phys. Chem. B*, 101 (1997) 3202
34. V. Mirceski, F. Quentel, M. L'Her and C. Elleouet, *J. Phys. Chem. C*, 111 (2007) 8283
35. S. V. Romanenko, A. G. Stromberg and T. N. Pushkareva, *Anal. Chim. Acta*, 580 (2006) 99
36. C. Barus, P. Gros, M. Comtat, S. Daunes-Marion and R. Tarroux, *Electrochim. Acta*, 52 (2007) 7978
37. J. Takebayashi, A. Tai, E. Gohda and I. Yamamoto, *Biol. Pharm. Bull.*, 29 (2006) 766
38. S. Nagaoka, T. Kakiuchi, K. Ohara and K. Mukai, *Chem. Phys. Lipids*, 146 (2007) 26
39. J. E. Packer, T. F. Slater and R. L. Willson, *Nature*, 278 (1979) 737
40. K. Mukai, K. Fukuda, K. Ishizu and Y. Kitamura, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 146 (1987) 134
41. K. Mukai, M. Nishimura and S. Kikuchi, *Biochim. Biophys. Acta*, 993 (1991) 168
42. R. D. Webster, *Acc. Chem. Res.*, 40 (2007) 251

Chapitre II :
Développement de capteurs électrochimiques
autonomes pour la mesure des Silicates et des
Phosphates

Chapitre II : Développement de capteurs électrochimiques autonomes pour la mesure des Silicates et des Phosphates

I – Principe de détection électrochimique sans ajout de réactif	22
I.1 – Dissolution anodique du molybdène.....	24
I.2 – Détection électrochimique des complexes Silico et Phosphomolybdiques.....	28
I.3 – Cas particulier des Phosphates : interférent et sensibilité	30
I.3.1 - Interférence des silicates.....	30
I.3.2 – Sensibilité de la détection par voltammétrie à vague carrée.....	32
II – Développement instrumental vers le capteur intégré Silicate	34
II.1 – Premiers prototypes de cellule intégrée pour la détection des silicates	35
II.1.1 - Développement et conception des électrodes	35
II.1.2 - Prototype faible volume à cellule unique.....	37
II.1.3 - Prototype faible volume à 2 cellules séparées	39
II.1.4 - Développement de l'électronique embarquée	42
II.2 – Capteur Silicate intégré, immergeable.....	43
II.2.1 - Présentation	44
II.2.2 - Figures de mérite.....	46
II.2.2.1 - Etalonnage	46
II.2.2.2 - Justesse et précision.....	48
II.2.2.3 – Sensibilité et répétabilité.....	50
II.2.2.4 – « Recovery tests »	51
III – Déploiements <i>in situ</i> et validation du capteur Silicate	52
III.1 – Intercomparaison avec la colorimétrie dans l'étang de Thau (Méditerranée) ..	53
III.2 – Déploiement au large de l'île de Pâques dans le Pacifique	57
IV – Conclusions	60
Références bibliographiques.....	64

Les acquis de ma thèse présentés au chapitre précédent, tant sur les fondements des techniques électrochimiques que sur la méthodologie d'étude des systèmes complexes, ont directement été mis à profit dans la suite dans ma carrière en développement expérimental et instrumental.

La conception d'un instrument et particulièrement le développement de capteurs chimiques et électrochimiques, nécessite une approche séquentielle basée sur l'étude et la compréhension préalable des processus et principes de détection mis au point avec des solutions simples, dans des conditions expérimentales contrôlées, avant de complexifier étape par étape, paramètre par paramètre, l'instrument de mesure jusqu'à la conception d'un capteur *in situ*, intégré, déployable en milieu réel.

A l'image de l'échelle TRL (Technology Readiness Level) évaluant le niveau de maturité technologique (Figure II-1), l'objectif de ce chapitre est de présenter l'ensemble des étapes propres au développement de capteurs électrochimiques pour la mesure *in situ* des silicates et des phosphates dans l'eau de mer.

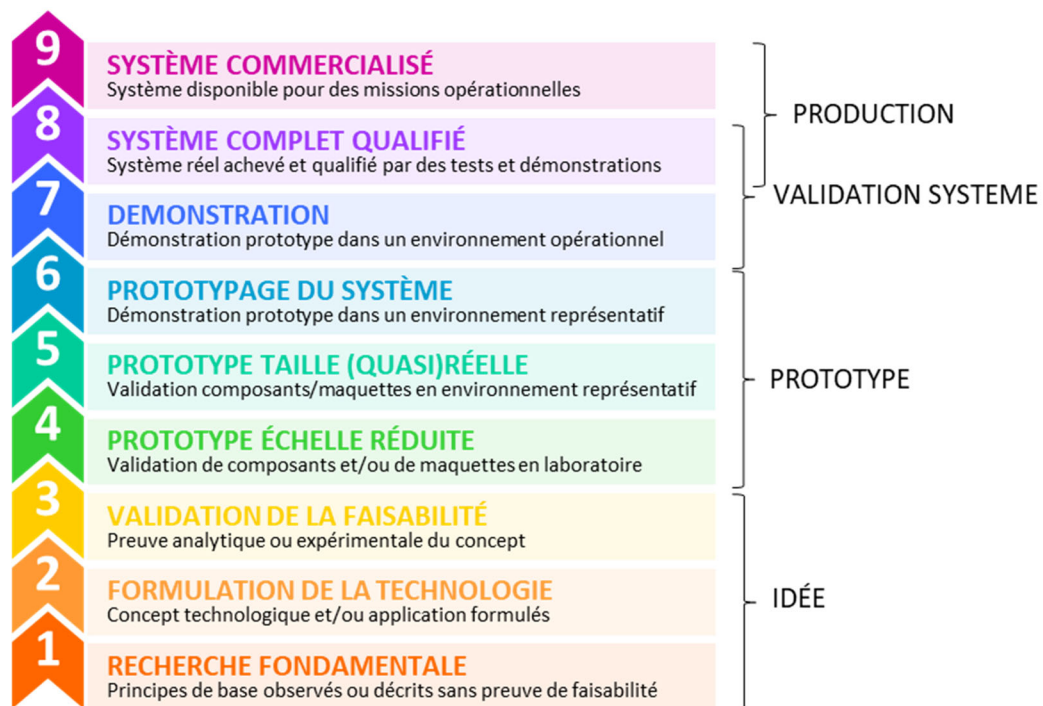


Figure II - 1 : Echelle de maturité technologique (TRL)

Les silicates et les phosphates sont, avec les nitrates, les sels nutritifs de l'environnement marin, utilisés par le phytoplancton pour leur croissance via le processus de photosynthèse. Ces nutriments sont donc à la base de la production primaire océanique dont l'impact sur le cycle global du carbone (séquestration du CO₂ dans les océans) est majeur, en lien direct avec la régulation du climat. Le suivi de l'évolution de leur concentration dans l'eau de mer représente donc un challenge scientifique pour la communauté océanographique dont l'objectif est une meilleure compréhension des processus biogéochimiques océaniques afin d'évaluer l'impact des rejets anthropiques sur le changement climatique. Le développement de capteurs autonomes, *in situ*, intégrés, adaptables sur différents types de plateformes et véhicules sous-marins est la clé pour atteindre les objectifs de haute fréquence de mesure, compte tenu de la très forte variabilité spatio-temporelle de la concentration en silicates et en phosphates observée dans les océans. Des capteurs électrochimiques ont été proposés pour détecter *in situ* les silicates et les phosphates dans l'eau de mer.

Ces travaux ont été initiés lors de la thèse de Marielle Lacombe soutenue en 2008. Cette collaboration entre le Laboratoire de Génie Chimique (LGC) et le Laboratoire d'Etudes en Géophysique et Océanographie Spatiales (LEGOS) avait alors permis de mettre en évidence l'intérêt des procédés électrochimiques pour la détection des silicates dans l'eau de mer ne nécessitant pas d'ajout de réactif liquide, révolutionnaire pour la communauté des océanographes (TRL2-3).

A mon arrivée au LEGOS en janvier 2011 (en CDD-IR avant ma titularisation en tant qu'ingénieure de recherche CNRS en décembre 2012), j'ai pris en charge les développements, prenant la responsabilité de chef du projet ANESIS (Autonomous Nutrients Electrochemical Sensors *In situ*).

Dans le cadre du projet MAISOE (financé par le RTRA-STAE, 2009-2013), j'ai mené les recherches et ajustements sur le principe de mesure en m'intéressant particulièrement aux mécanismes de détection des silicates et des phosphates et à l'oxydation du molybdène. Puis j'ai conduit, co-encadré et encadré la suite des développements, la conception des différents prototypes jusqu'à la fabrication des capteurs intégrés, immergeables ainsi que leurs déploiements dans le cadre des projets européens SenseOCEAN (UE-FP7, 2013-2017 – co-Work Package leader), OCEANSensor (Call H2020 MartERA, financé par l'ANR, 2018-2021, responsable scientifique du LEGOS et Work Package leader) et enfin le projet H2020 NAUTILUS (2020-2024, sub-task leader).

Au sein de ces projets, j'ai co-encadré à hauteur de 80 % David Aguilar (9 mois), Ivan Romanytsia (18 mois) et Dancheng Chen Legrand (17 mois) : post-doctorants du projet SenseOCEAN puis encadré à 100 % Dancheng Chen Legrand : 27 mois dans le projet OCEANSensor et 18 mois pour le projet

NAUTILUS. J'ai également dirigé 2 stagiaires de l'IUT Mesures Physiques (4 mois en 2012 sur le projet MAISOE et 3 mois en 2013 sur SenseOCEAN).

La première partie de ce chapitre est consacrée à l'étude de la dissolution anodique du Molybdène ainsi que l'influence des conditions expérimentales sur la formation et la détection des complexes silico- et phosphomolybdiques (TRL3).

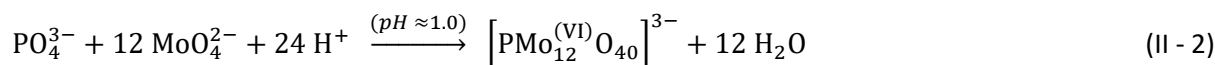
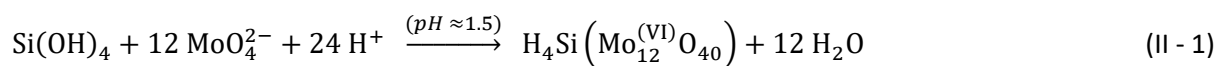
Dans une deuxième partie sont présentées les différentes solutions mécaniques étudiées et la mise au point des premiers prototypes de laboratoire (TRL4) intégrant un système de pompage, la fabrication de matériaux d'électrodes et pièces d'assemblage non polluantes, le développement de l'électronique (TRL5) jusqu'à l'épreuve ultime de la mise à l'eau du capteur Silicate en milieux simulés (TRL6) puis réels (TRL7).

Pour terminer, l'utilisation du capteur Silicate a été validée *in situ*, avec une série de déploiements en mer atteignant un niveau de maturité technologique de 8.

I – Principe de détection électrochimique sans ajout de réactif

La méthode de référence, largement employée, pour la détection des silicates et des phosphates dans l'eau de mer après leur complexation est la spectrophotométrie visible [1]. Cette méthode colorimétrique nécessite d'embarquer des poches de réactifs encombrantes qui augmentent la taille des capteurs, complexifiant leur implémentation sur certains véhicules autonomes (profileurs et gliders) ; et également limitent leur autonomie, soit par la quantité limitée des réactifs, soit à cause de la stabilité des réactifs dans le temps [2-8]. L'acide ascorbique notamment pour la détection des silicates et des phosphates se dégrade rapidement [9,10].

Afin de s'affranchir de l'ajout de réactif liquide, la détection électrochimique des silicates (Si(OH)_4) et des ions orthophosphate (PO_4^{3-}) a été proposée. Cependant ces sels nutritifs étant électroinactifs, ils ne peuvent pas être détectés directement par électrochimie. Néanmoins après complexation avec des molybdates (MoO_4^{2-}) en milieu acide, les complexes silico et phosphomolybdiques (Eq. II-1 et II-2) obtenus sont quant à eux détectables par les méthodes électrochimiques sur des électrodes classiques telles que l'or, le platine ou le carbone vitreux [11-13].



Les réactifs nécessaires à la complexation des silicates et des phosphates (H^+ et MoO_4^{2-}) sont générés *in situ* à partir d'une simple oxydation d'une électrode solide de Molybdène (Eq. II - 3).



Pour atteindre les conditions de pH acide nécessaires à la formation des complexes, la contre-électrode doit être isolée dans un autre compartiment afin de limiter la réduction en dihydrogène, des protons (H^+) formés à l'anode (Mo). Pour cela, une membrane Nafion® (N117 Du Pont™ Nafion® PFSA Membranes) d'épaisseur de 180 μm est utilisée permettant de concentrer les protons dans le compartiment anodique jusqu'à atteindre les conditions de pH désirées pour la formation des complexes silico et phosphomolybdiques (Figure II-2) [13-16].

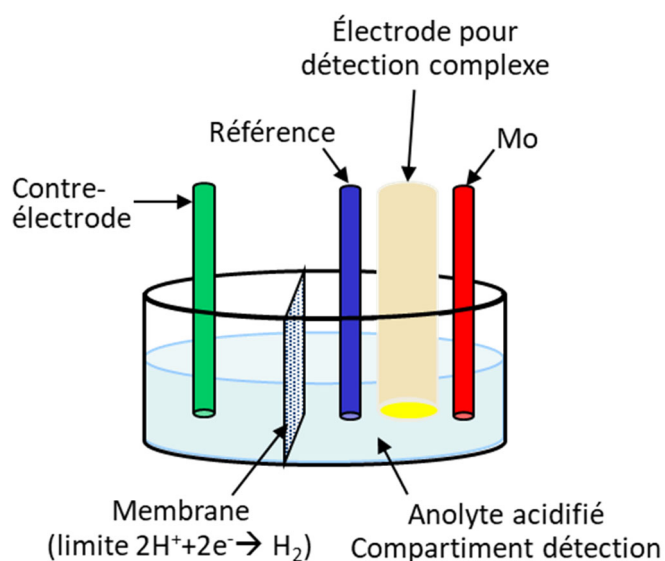


Figure II - 2 : Schéma de principe de la cellule compartimentée pour la formation et la détection du complexe silicomolybdique

I.1 – Dissolution anodique du molybdène

A mon arrivée au LEGOS, j'ai mené une étude sur la dissolution anodique du molybdène (résultats non publiés) afin de mieux comprendre le système Mo et par extension la complexation du Mo(VI) avec les silicates d'une part, et de fixer les paramètres électrochimiques pour la formation des réactifs (MoO_4^{2-} et H^+) d'autre part. Dans la cellule compartimentée (Figure II-2) remplie d'une solution de chlorure de sodium ($[\text{NaCl}] = 34,5 \text{ g L}^{-1}$) de $\text{pH}_{\text{initial}} = 4,5$, j'ai réalisé des électrolyses à 0,8 V, 1,2 V et 1,6 V / Ag/AgCl/KCl (3M) sur un fil de molybdène, pesé avant et après électrolyses afin de déterminer la quantité de molybdène(0) consommée en fonction de la charge et ainsi de déterminer le nombre moyen d'électrons échangés au cours des électrolyses. Les résultats obtenus sont présentés sur la Figure II-3. Lors de son oxydation, l'électrode de molybdène se recouvre d'un film noir et la solution se teinte en bleu.

Les pentes des droites $n(\text{Mo})_{\text{oxydé}} = f(Q/F)$ obtenues sur la Figure II-3 correspondent au nombre d'électrons échangés, d'après la loi de Faraday : $Q = \int_0^t I \cdot dt = n_{e^-} \cdot F \cdot n(\text{Mo})_{\text{oxydé}}$ avec n_{e^-} le nombre d'électrons échangés, F la constante de Faraday et $n(\text{Mo})_{\text{oxydé}}$ le nombre de moles de molybdène(0) oxydé. Pour l'ensemble des électrolyses réalisées, le nombre d'électrons échangés augmente lorsque le potentiel imposé est de plus en plus élevé, pour se rapprocher des 6 électrons échangés ($n_{e^-} = 5,90 \pm 0,03$) à fort potentiel anodique ($E = 1,6 \text{ V}$), correspondant à la formation de molybdène(VI) (Eq. II – 3).

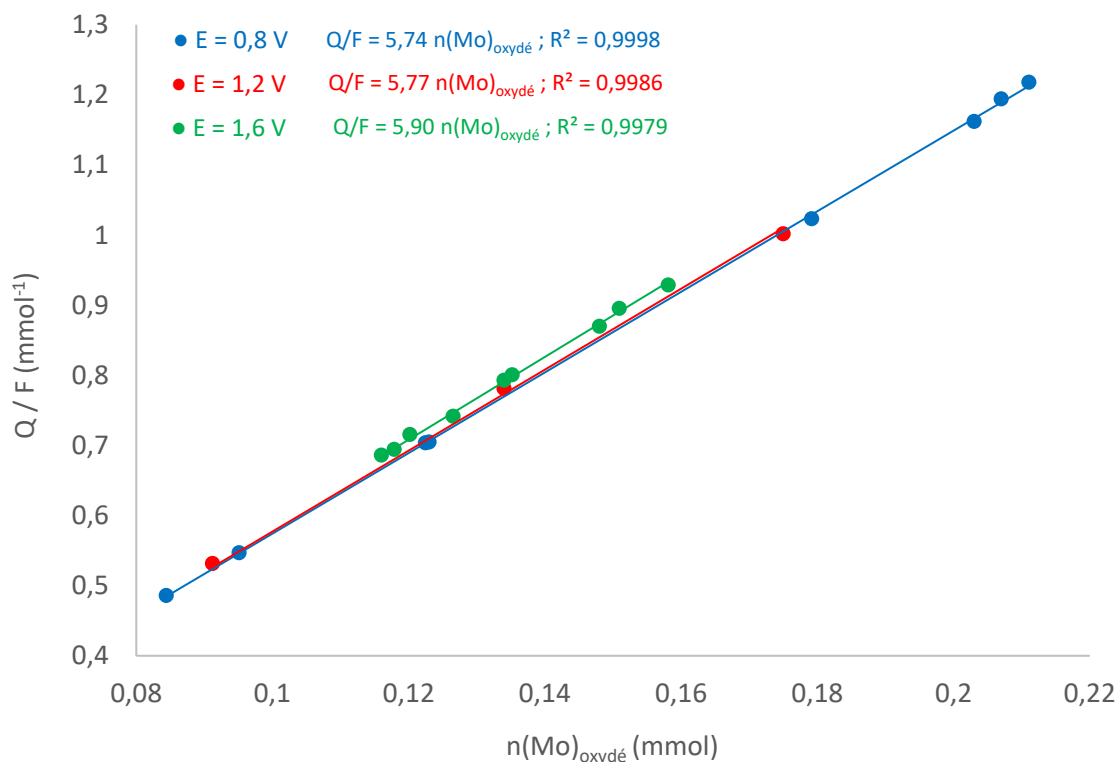


Figure II - 3 : Charge électrique totale consommée en fin d'électrolyse divisée par le nombre de Faraday en fonction du nombre de moles de Mo(0) oxydé à E = 0,8 V (bleu), E = 1,2 V (rouge) et E = 1,6 V (vert)

Le pH de l'anolyte a également été mesuré avant et après chaque électrolyse et le ratio $\frac{n_{H^+}(\text{formé})}{n_{\text{Mo}(\text{oxydé})}}$ obtenu est proche de 3, soit très inférieur des 8 unités stœchiométriques attendues pour la formation de Mo(VI) (Eq. II -3). D'après la loi de Faraday, la charge théorique pour atteindre un pH = 1,5 à partir d'un anolyte de 3 mL de NaCl (à 34,5 g L⁻¹) de pH_{initial} = 4,5 est de Q_{théorique} = 6,86 C. Expérimentalement, cette charge de coupure théorique n'est pas suffisante et Q_{exp} ≈ 14 C sont nécessaires pour atteindre un pH voisin de 1,5.

L'ensemble de ces résultats s'expliquent d'une part par la complexité du mécanisme d'oxydation du molybdène (Mo(0)) qui implique la formation d'oxydes de surface et d'espèces en solution dont la nature (nombre d'oxydation : allant de -II à +VI) et la composition (nombre de coordination : allant de 0 à 8) dépendent du milieu et des conditions expérimentales (pH, concentrations (Mo, oxydes Mo, Mo_{solution}), potentiel, procédé d'oxydation, électrolyte, température, pression) (Figure II-4) [17-20].

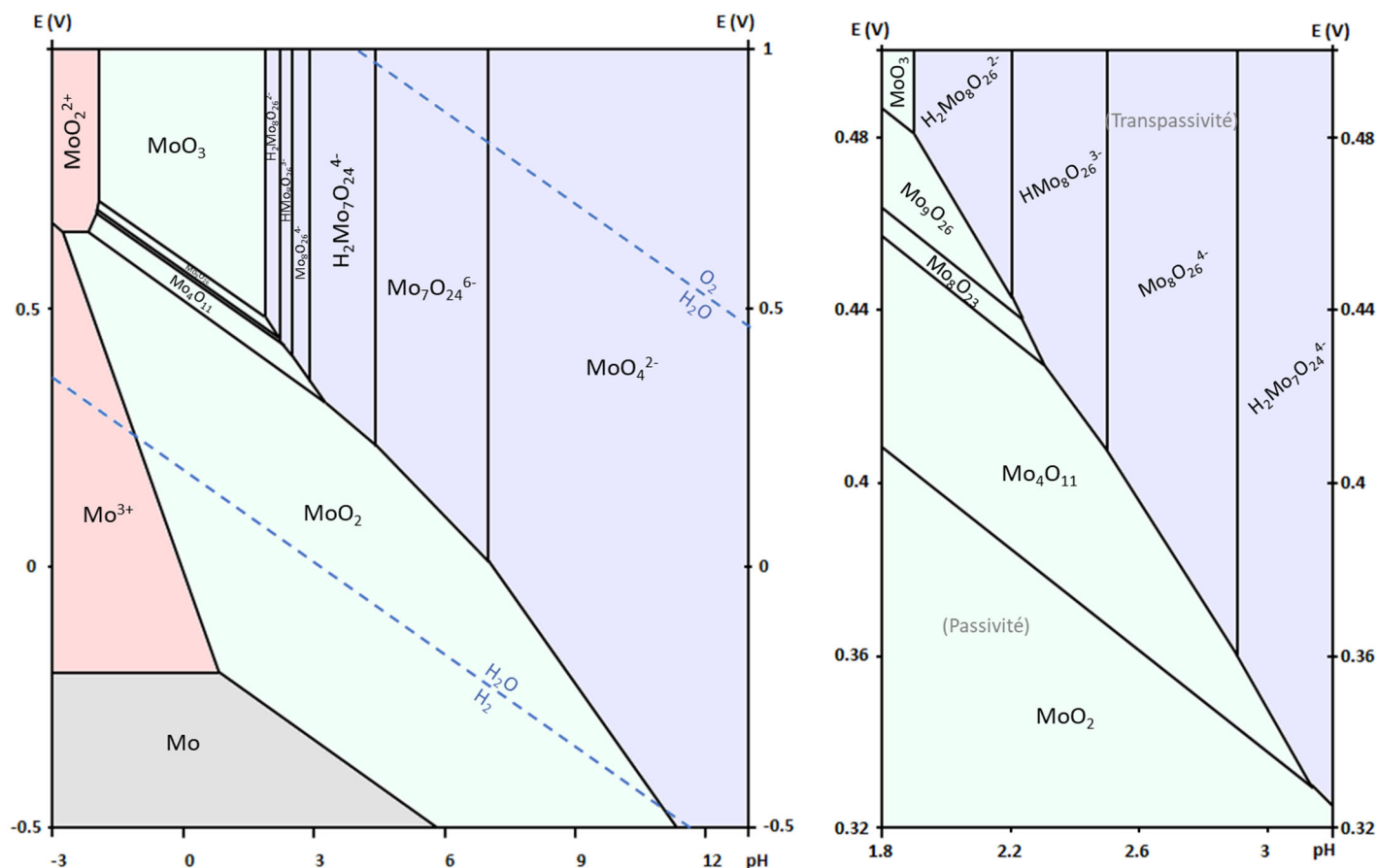


Figure II - 4 : Diagramme de Pourbaix révisité à 25°C en milieu aqueux [17]
(rouge : Corrosion, vert : domaine de passivité et bleu : domaine de transpassivité)

La transpassivité du molybdène (en bleu sur la Figure II-4) est atteinte pour les pH les plus basiques ou de forts potentiels anodiques entraînant la dissolution des oxydes solides et la formation d'oxydes non-stoechiométriques et d'espèces solubles de Mo(VI) polymolybdiques [17-19,21-27]. Le temps d'électrolyse joue également un rôle majeur dans le mécanisme. Lorsque le molybdène est oxydé à haut potentiel anodique ($> 0,5V$) pour des temps d'électrolyse relativement longs ($> 1min$), il a été observé une instabilité mécanique du films d'oxydes, favorisant la transition du Mo(IV) vers le molybdène bleu correspondant à une espèce mixte de Mo(V)/Mo(VI) entraînant une coloration bleue caractéristique de la solution observée lors des différentes électrolyses réalisées [25,27,28].

En plus de la formation de plusieurs espèces de molybdène, il faut également considérer les réactions de condensation et de protonation des molybdates, représentées par l'équation II-4, pour former des polyoxoanions dont la composition et la structure géométrique et isomérique sont très dépendantes de l'environnement (matrice, électrolyte, pH) mais également de la concentration en molybdate [29-

32]. A très faible concentration en molybdate ($<10^{-4}$ mol L⁻¹), les espèces mononucléaires restent prédominantes. Mais pour une concentration élevée en molybdates, un pH très acide (cas des conditions expérimentales de cette étude) conduit à la formation d'isopolyoxomolybdates de hautes valences. Ceci entraîne une consommation des protons en solution expliquant les résultats expérimentaux obtenus et la nécessité d'oxyder le Mo(0) à une charge bien plus élevée que la charge théorique prédite par la loi de Faraday pour atteindre les conditions de pH $\approx 1,5$ désirées.



Le protocole mis au point au laboratoire (thèse de M. Lacombe) et en vigueur lors de mon arrivée au LEGOS consistait à oxyder le Molybdène à une intensité constante de 50 mA pendant 280 secondes (soit 14 C). Ce mode intensistatique n'est pas optimal pour l'application capteur visée. En effet, la surface du Molybdène se consomme au fur et à mesure de l'utilisation du capteur, diminuant la surface de l'électrode et donc sa capacité à délivrer les 50 mA. J'ai proposé d'utiliser la chronoampérométrie. Cette méthode étant sélective, à condition de contrôler le potentiel appliqué au moyen d'une électrode de référence stable, permet de s'affranchir de l'état de surface du Mo(0) ainsi que de la surface disponible ou d'éventuels problèmes de résistance dans la cellule électrochimique embarquée (présence de bulles notamment).

Au vu des résultats obtenus et des connaissances sur le mécanisme d'oxydation du molybdène(0), un potentiel élevé (très anodique : $\geq 1V$) est donc préférable pour oxyder le molybdène et favoriser la formation d'ions Mo(VI). Il faut néanmoins être vigilant quant à l'intensité très élevée produite en imposant un très fort potentiel anodique et qui serait potentiellement problématique pour la carte électronique embarquée du capteur. L'arrêt des électrolyses doit être contrôlé par la charge électrique qui est déterminée expérimentalement pour chacune des cellules électrochimiques utilisées, en suivant l'évolution du pH de l'anolyte (déterminée à 14 C pour 3 mL d'anolyte).

I.2 – Détection électrochimique des complexes Silico et Phosphomolybdiques

Contrairement aux détections colorimétriques qui nécessitent de réduire les anions de Keggin $[\text{SiMo}_{12}\text{O}_{40}]^{4-}$ et $[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$ en molybdène bleu (mélange de Mo(V) et Mo(VI)) absorbant dans le visible à 810 nm [1], les complexes silico- et phosphomolybdiques peuvent être détectés directement par électrochimie sur une électrode d'or ou de carbone vitreux [11-13].

Les voltammogrammes cycliques obtenus sur une électrode d'or dans une solution de chlorure de sodium contenant $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de silicates (en noir) et de phosphates (en rouge) sont présentés sur la Figure II-5. Les complexes silico- et phosphomolybdiques se réduisent en 2 vagues réversibles entre respectivement 0,5 V et 0,15 V et 0,7 et 0,2 V par rapport à une électrode de référence Ag/AgCl/KCl (3M). Par la suite, sont dénommés pic 1 : les premières vagues (réduction et oxydation) observées aux potentiels les plus élevés et pic 2 : les deuxièmes vagues aux potentiels les plus faibles, indiqués sur la Figure II-5. Les écarts entre les potentiels anodiques et cathodiques ($E_{pa}-E_{pc}$) sont plus grands pour les phosphates que pour les silicates et également pour les pics 2 comparées aux pics 1 avec respectivement $\Delta E_{p1} = 50 \text{ mV}$ et $\Delta E_{p2} = 60 \text{ mV}$ pour les silicates et $\Delta E_{p1} = 70 \text{ mV}$ et $\Delta E_{p2} = 80 \text{ mV}$ pour les phosphates ; indiquant un transfert électronique moins rapide pour la 2^{ème} réduction et également pour les phosphates par rapport aux silicates. De plus, la forme des pics pour le complexe phosphomolybdique est plus écrasée (largeurs des pics à mi-hauteur plus larges) que les silicates avec des densités de courant plus faibles également.

Pour l'ensemble des 4 pics (silicate et phosphate), les densités de courant sont proportionnelles à la racine carrée de la vitesse de balayage indiquant que la vitesse de la réaction est limitée par la diffusion des complexes silico- et phosphomolybdiques en solution pour les concentrations de $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ testées [12,13,33].

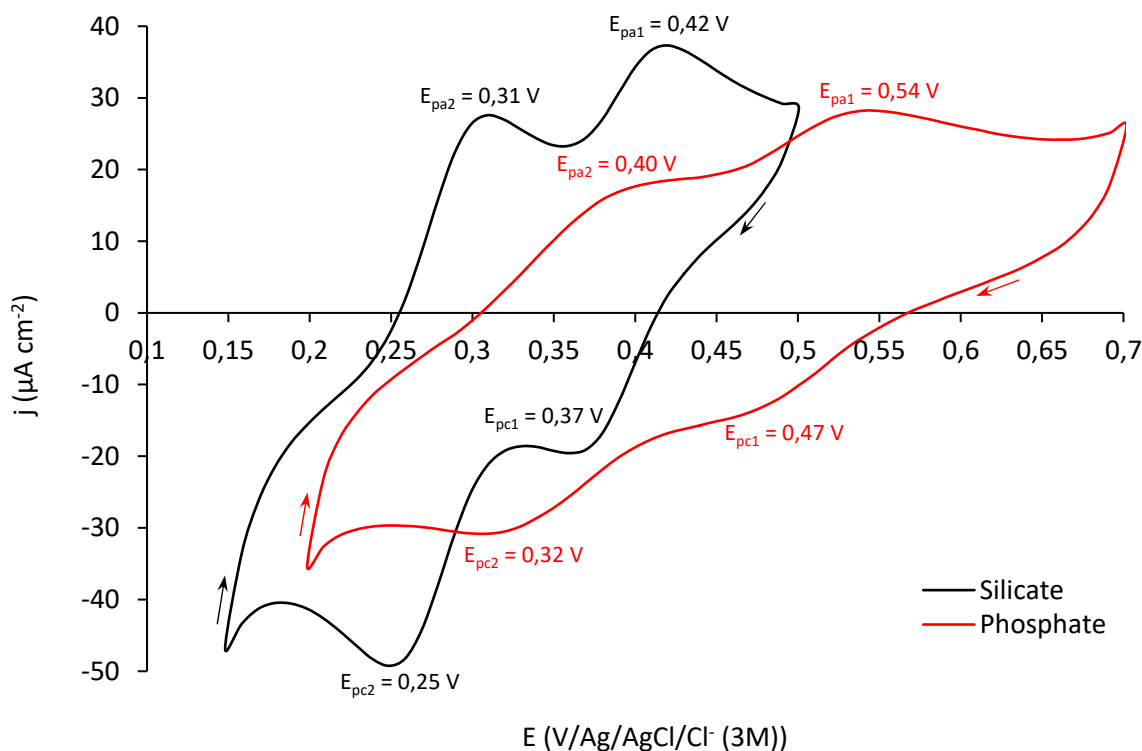


Figure II - 5 : Voltammogrammes cycliques enregistrés sur un disque d'or ($\varphi = 3 \text{ mm}$) à 100 mV s^{-1} dans une solution de NaCl ($0,6 \text{ mol L}^{-1}$) contenant $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de silicate après oxydation du molybdène à 50 mA pendant 240 s (noir) et $100 \mu\text{mol L}^{-1}$ de phosphate après oxydation du molybdène à 50 mA pendant 600 s (rouge).

En considérant l'équation II-5 correspondant aux systèmes réversibles :

$$|E_p - E_{p/2}| = 2,20 \frac{RT}{nF} \quad (\text{II} - 5)$$

avec E_p : le potentiel de pic cathodique, $E_{p/2}$: le potentiel à mi-hauteur de pic (à $I_{pic}/2$), R la constante des gaz parfaits ($R = 8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$), T la température, n le nombre d'électron échangé et F la constante de Faraday ($F = 96485,3 \text{ C mol}^{-1}$) ; les nombres d'électrons échangés sont identiques pour les 2 vagues de réduction avec 2 électrons échangés pour les silicates ($n_{Si} \approx 1,9$). Pour les phosphates, le nombre d'électrons échangés calculé est proche de $n_p \approx 1,2$. Le mécanisme de réduction des phosphomolybdates semble plus complexe encore que celui des silicates. Carpenter *et al.* ont notamment montré que la vitesse de réduction du complexe phosphomolybdique n'est pas entièrement contrôlée par la diffusion. Une étape de protonation précède la réduction des complexes silico et phosphomolybdiques dont la vitesse de réaction est bien plus rapide dans le cas de silicates par rapport aux phosphates [11].

I.3 – Cas particulier des Phosphates : interférent et sensibilité

I.3.1 - Interférence des silicates

Les 2 complexes sont détectés à des potentiels trop proches (Figure II-5). De plus, en considérant la gamme de concentrations très faibles en phosphates ($0\text{-}6\ \mu\text{mol L}^{-1}$) devant celle en silicates ($0\text{-}140\ \mu\text{mol L}^{-1}$) observée dans l'océan ouvert, les silicates représentent donc un interférent pour la détection des phosphates. Pour s'affranchir de ce problème, la méthode utilisée en colorimétrie consiste à se placer à $\text{pH} = 1$ et à détecter le complexe phosphomolybdique sur des temps plus courts, la cinétique de formation du complexe étant bien plus rapide à ce pH pour les phosphates que pour les silicates. Il a également été montré qu'un ratio $\frac{[\text{H}^+]}{[\text{MoO}_4^{2-}]} = 70$ permet la complexation exclusive des phosphates et donc de s'affranchir complètement de l'influence des silicates [34]. Les travaux réalisés au LEGOS par Jońca *et al.* ont montré qu'en se plaçant dans les mêmes conditions ; $[\text{H}^+]/[\text{MoO}_4^{2-}] = 70$, $\text{pH} = 1$; seul le complexe phosphomolybdique est détecté par électrochimie [35].

Pour atteindre *in situ* ce ratio $\frac{[\text{H}^+]}{[\text{MoO}_4^{2-}]} = 70$ sans ajout de réactif liquide, la cellule électrochimique (Figure II-2) a été modifiée pour intégrer un troisième compartiment avec une deuxième électrode de molybdène. Ce compartiment est connecté au compartiment de détection via une fine membrane échangeuse de protons (FuMaTech, fumapem® F-930, $30\ \mu\text{m}$ d'épaisseur). L'électrode de molybdène est oxydée afin de produire des protons qui traversent la membrane FuMaTech pour se concentrer dans le compartiment de détection qui atteint ainsi un $\text{pH} = 1$. L'électrode de molybdène du compartiment de détection est à son tour oxydée pour former les molybdates et ainsi atteindre le ratio $\frac{[\text{H}^+]}{[\text{MoO}_4^{2-}]} = 70$ permettant de former uniquement le complexe phosphomolybdique, sans l'interférence des silicates. Comme dans le cas des silicates, la contre-électrode est isolée dans le troisième compartiment, derrière la membrane Nafion® de $180\ \mu\text{m}$ d'épaisseur pour éviter la réduction des protons formés en dihydrogène. Le schéma de la cellule phosphate est présenté sur la Figure II-6.

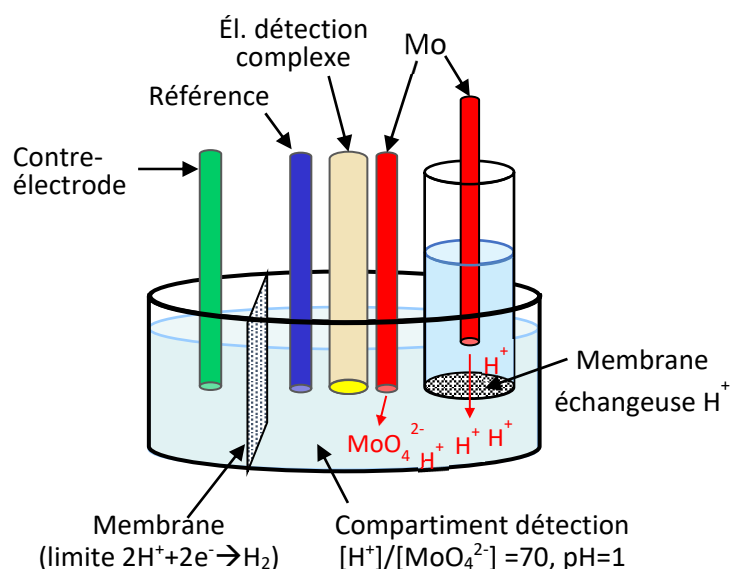


Figure II - 6 : Schéma de principe de la cellule électrochimique à 3 compartiments pour la détection des phosphates sans ajout de réactif liquide et sans interférence des silicates

La Figure II-7 montre l'évolution du signal ampérométrique obtenu à $E = 0,29$ V sur une électrode tournante (2000 rpm) en or, introduite dans le 2^{ème} compartiment, après ajouts de phosphates ou de silicates dans une solution d'eau de mer artificielle. Seul le complexe phosphomolybdique a été détecté dans ces conditions expérimentales.

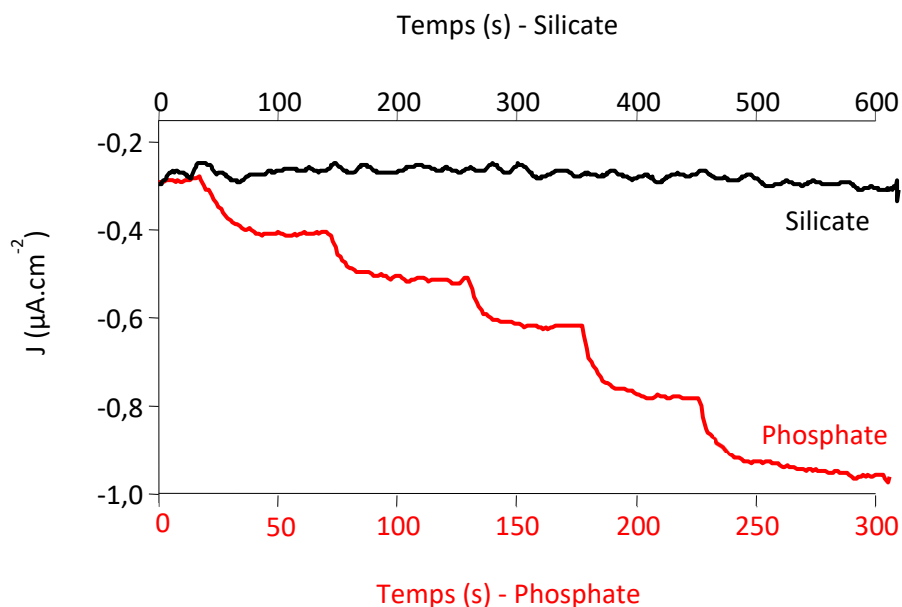


Figure II - 7 : Chronoampérogrammes enregistrés à $E = 0,29$ V sur une électrode tournante à 2000 rpm en or dans de l'eau de mer artificielle modifiée (ratio $[H^+]/[MoO_4^{2-}] = 70$, pH = 1) et ajouts standards de silicate (en noir) ($8,5$ - $154,5 \mu mol L^{-1}$) et de phosphate (en rouge) ($0,59$ - $3,49 \mu mol L^{-1}$) [35]

I.3.2 - Sensibilité de la détection par voltammétrie à vague carrée

Considérant les faibles concentrations en phosphates observées *in situ*, la voltammétrie cyclique n'est pas suffisamment sensible pour monitorer leur concentration. La chronoampérométrie nécessitant une électrode tournante, trop énergivore, n'est également pas adaptée pour le développement d'un capteur intégré de faible taille. Suite à la thèse de Justyna Jońca, j'ai donc repris les travaux sur la détection des phosphates en proposant d'utiliser la voltammétrie à vague carrée (encadrement d'Ivan Romanytsia post-doctorant du projet SenseOCEAN). Cette méthode consiste en une rampe de potentiel (caractérisée par son pas de potentiel E_{step}) combinée à des impulsions carrées de potentiel d'amplitudes (A) égales et de signes opposés (Figure II-8A). Le courant est échantillonné à la fin de chaque impulsion permettant de s'affranchir de la contribution du courant capacitif ($I_c \propto e^{-\frac{t}{RC}}$, avec t le temps, R la résistance de la solution et C la capacité de la double couche) correspondant à la charge/décharge de la double couche, devant le courant faradique ($I_f \propto t^{-\frac{1}{2}}$) correspondant au transfert électronique de l'espèce étudiée, et ainsi d'atteindre des niveaux de sensibilité bien plus élevés que la voltammétrie cyclique. Le voltammogramme à vague carrée (Figure II-8B) correspond à la différence d'intensités aller (I_1) et retour (I_2) tracée en fonction du balayage de potentiel ($\Delta I = f(E_{\text{step}})$).

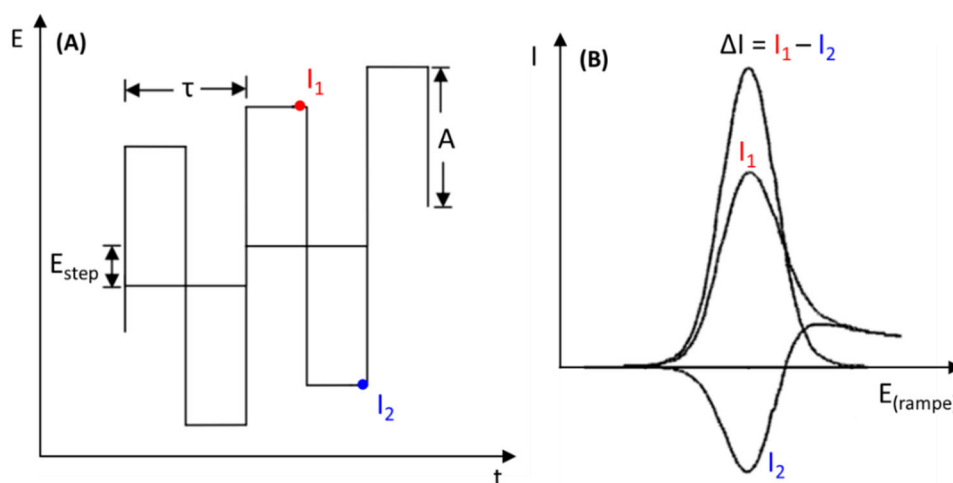


Figure II - 8 : (A) Potentiel appliqué au cours du temps dans le cas de la voltammétrie à vague carrée – (B) Voltammogramme à vague carrée correspondant

Deux pics de réduction à 0,3 et 0,15 V/Ag/AgCl/KCl (3M) sont observés sur les voltammogrammes à vague carrée obtenus avec la cellule compartimentée (Figure II-6) pour des solutions de phosphate de concentrations comprises entre 0 et 6 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

A fortes fréquences $f = 250 \text{ Hz}$ ($A = 25 \text{ mV}$) (résultats non montrés), alors que l'intensité du premier pic à 0,3 V n'était pas linéaire avec la concentration en phosphate, le signal du deuxième pic à 0,15 V sature au-delà de 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$.

En abaissant la fréquence à $f = 2,5 \text{ Hz}$ ($A = 25 \text{ mV}$) (Figure II-9), aucune linéarité n'a été observée avec la concentration en phosphate pour le pic à $E = 0,3 \text{ V}$ (Δ). Les intensités de pic oscillaient avec la concentration illustrant peut-être une instabilité du complexe formé.

Pour le pic à $E = 0,15 \text{ V}$ ($f = 2,5 \text{ Hz}$), la droite d'étalonnage obtenue est linéaire sur toute la gamme de concentration des phosphates (0-6 $\mu\text{mol L}^{-1}$) sans saturation du signal (Figure II-9 (insert-▲)). Un décalage du potentiel de pic vers les potentiels cathodiques est clairement observé lorsque la concentration en phosphate augmente indiquant un transfert électronique plus difficile aux plus fortes concentrations. Comme attendu, la limite de quantification obtenue à cette fréquence est plus élevée que précédemment : 0,5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ contre 0,07 $\mu\text{mol L}^{-1}$ à 250 Hz. Ce phénomène de saturation s'explique par la formation de plusieurs types de complexes phosphomolybdiques en fonction des concentrations en phosphates et en protons ainsi que des structures polymériques à fortes concentrations en phosphate entraînant une diminution de la vitesse de diffusion du complexe en solution et/ou du transfert électronique [33,36-43].

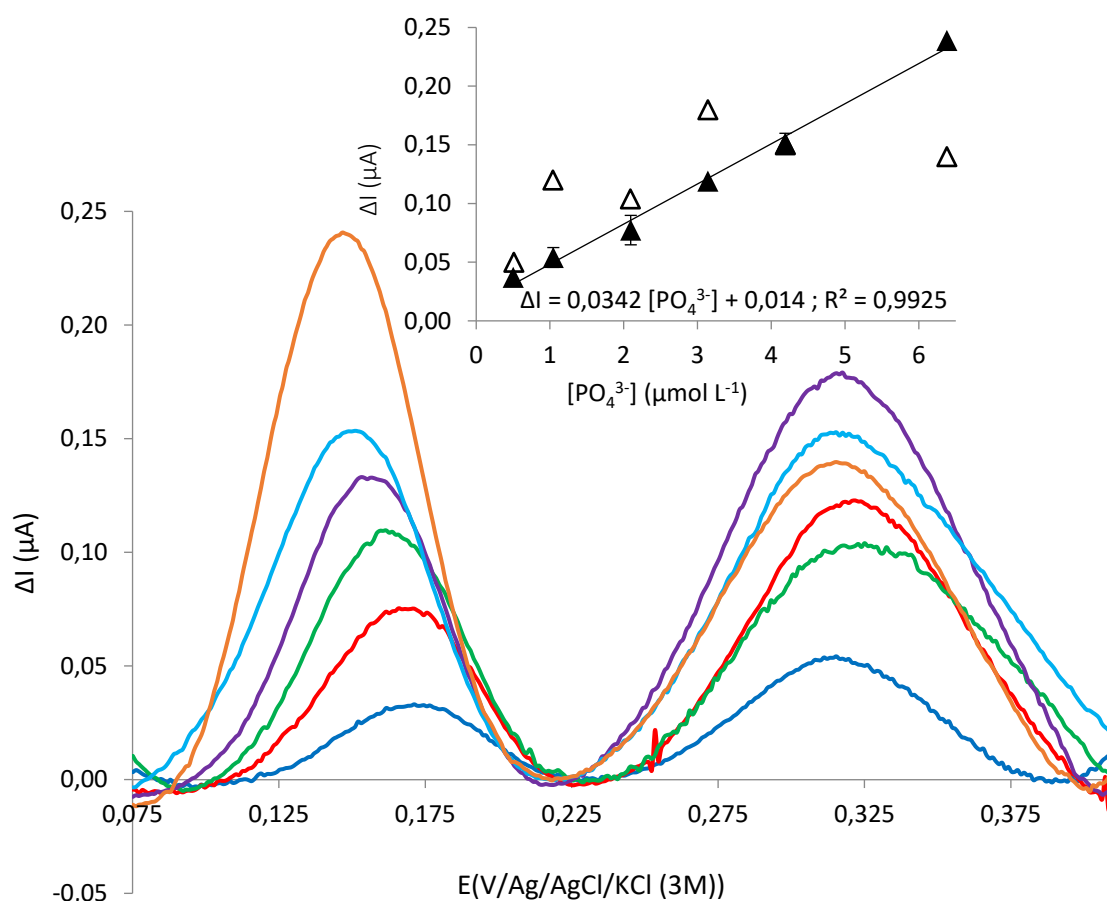


Figure II - 9 : Voltammogrammes à vague carrée à $f = 2,5$ Hz ($A = 25$ mV, $E_{step} = 1$ mV) obtenue sur une électrode en or ($\varphi = 3$ mm) dans une solution de NaCl ($34,5$ g L⁻¹) modifiée ($pH = 1$, $[H^+]/[MoO_4^{2-}] = 70$) contenant $0,502$, $1,04$, $2,09$, $3,14$, $4,19$ et $6,38$ µmol L⁻¹ de PO_4^{3-} - Insert : Courbes d'étalonnage correspondantes ($\Delta I = f([PO_4^{3-}])$) pour le pic à $E = 0,3$ V (\triangle) et à $E = 0,15$ V (\blacktriangle)

Selon la zone océanique d'étude, la fréquence sera donc adaptée en conséquence : 250 Hz dans la couche de surface où les concentrations en phosphate sont relativement faibles (nanomolaire) et 2,5 Hz dans l'océan profond et les zones d'upwelling* où les plus fortes concentrations en phosphate sont observées.

II – Développement instrumental vers le capteur intégré Silicate

J'ai choisi de présenter uniquement les développements réalisés sur le capteur Silicate, ceux-ci ayant abouti à la conception d'un capteur intégré, immergeable et validé *in situ* par des déploiements en mer Méditerranée et dans l'océan Pacifique. La même méthodologie et approche instrumentale ont

* remontée d'eaux profondes froides et riches en nutriments sous l'effet de la circulation thermohaline couplée à des vents favorables, observée sur les bords Est des océans (côtes Ouest continentales).

été réalisées avec le capteur Phosphate et bien qu'une version intégrée immergeable phosphate ait été développée et conçue, celle-ci n'a pas été déployée en mer à ce jour, uniquement en milieu simulé au laboratoire.

II.1 – Premiers prototypes de cellule intégrée pour la détection des silicates

Dans les cellules de mesure dite « ouvertes » schématisées sur les Figures II-2 et II-6 utilisées pour mettre au point les principes de mesure, une agitation mécanique permettaient d'homogénéiser la solution (pendant 6 minutes dans le cas des silicates) dans le compartiment de détection.

Dans une version immergeable de capteur, l'homogénéisation de la solution se fait uniquement via la diffusion des réactifs. Une agitation mécanique de la solution demanderait une consommation électrique trop importante, incompatible avec une instrumentation *in situ* déployable pendant plusieurs mois. Afin d'obtenir une homogénéisation, par diffusion uniquement, rapide, un prototype de faible volume a été mis au point. En diminuant les dimensions et les volumes de la cellule, la distance à parcourir des réactifs de la surface de l'électrode de molybdène vers le cœur de la solution est également réduite.

II.1.1 - Développement et conception des électrodes

Afin de réduire considérablement la taille des cellules, il a fallu dans un premier temps concevoir des électrodes, notamment l'électrode de travail, les électrodes commerciales de type Metrohm® n'étant pas adaptable dans le capteur. Pour cela, deux approches ont été étudiées en parallèle : la réalisation d'électrodes à base de fils métalliques encapsulés dans une résine de type époxy et le développement de microdispositifs en technologie silicium.

Ces microdispositifs ont été développés en collaboration avec le Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes (LAAS) de Toulouse et réalisés dans les salles blanches du LAAS. Les métaux (Au, Ag, Pt) sont déposés en phase vapeur à la surface d'un wafer en silicium oxydé. Une couche de passivation inorganique en nitrure de silicium (Si_3N_4) est ensuite déposée par dépôt chimique en phase vapeur assisté par plasma à couplage inductif afin d'isoler électriquement les électrodes et définir leur géométrie. L'intérêt de la microfabrication en série permet de créer des dispositifs aux performances physiques et chimiques identiques avec des géométries et surfaces

d'électrodes bien définies et reproductibles et également d'abaisser les coûts de fabrication des électrodes et donc des capteurs.

Cependant je ne rentrerai pas dans le détail de ces recherches qui ont donné lieu à une publication (voir annexe à la fin de ce chapitre) car si ces microdispositifs ont montré de bons résultats quant à la détection des silicates sur une électrode de platine, leur stabilité n'est pas compatible avec l'application de capteurs *in situ* dans l'environnement marin [14]. En effet, il a été observé que l'eau de mer, très corrosive, s'infiltre sous la couche de passivation rendant inutilisables ces microdispositifs sur des longues périodes d'immersion.

Les électrodes réalisées au laboratoire, constituées d'un fil métallique enrobé dans une résine époxy inerte, ont donc été choisies pour être intégrées dans la version immergeable du capteur (Figure II-10). L'ensemble des pièces permettant la fabrication des électrodes a été réalisé à l'atelier du Groupe d'Instrumentation Scientifique (GIS) de l'Observatoire Midi-Pyrénées (OMP). Les fils métalliques sont soudés à un support en laiton au moyen d'une résine époxy conductrice à base d'argent (EPO-TEK® H20E, Epoxy Technology). La résine époxy inerte encapsulant les fils métalliques permettant de définir une électrode disque après polissage en surface est composée d'un mélange de DGEBA (DiGlycidyl Ether du Bisphenol A) et de DETA (Diethylenetriamine) ou IPDA (Isophorone Diamine).

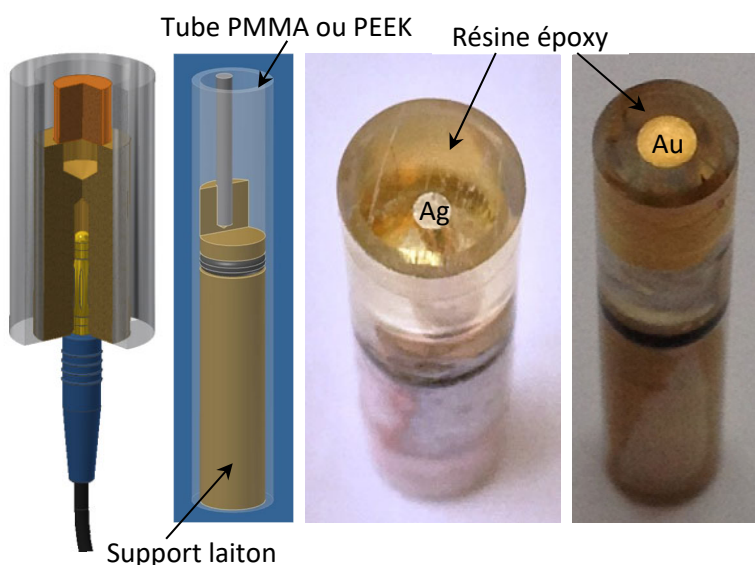


Figure II - 10 : Schémas et photos d'électrodes réalisées au LEGOS (PMMA : Polyméthacrylate de méthyle, PEEK : Polyétheréthercétone)

Un long travail de caractérisation de ces électrodes a été mené à mon arrivée au laboratoire pour définir la stabilité de la résine et son adhésion à la surface de l'or, réputée difficile sur ce métal, de vérifier l'absence de relargage de composés interférents à la détection des silicates et des phosphates. De manière générale, l'absence de relargage de composés interférents et la stabilité dans le temps ont été vérifiées sur l'ensemble des matériaux constitutifs du capteur (circuit de détection) susceptibles d'être en contact avec l'eau de mer.

II.1.2 - Prototype faible volume à cellule unique

A mon arrivée au laboratoire LEGOS, j'ai pris en charge la caractérisation d'un premier prototype de faible volume (160 μL) (Figure II-11) à cellule unique conçu en collaboration avec le GIS-OMP.

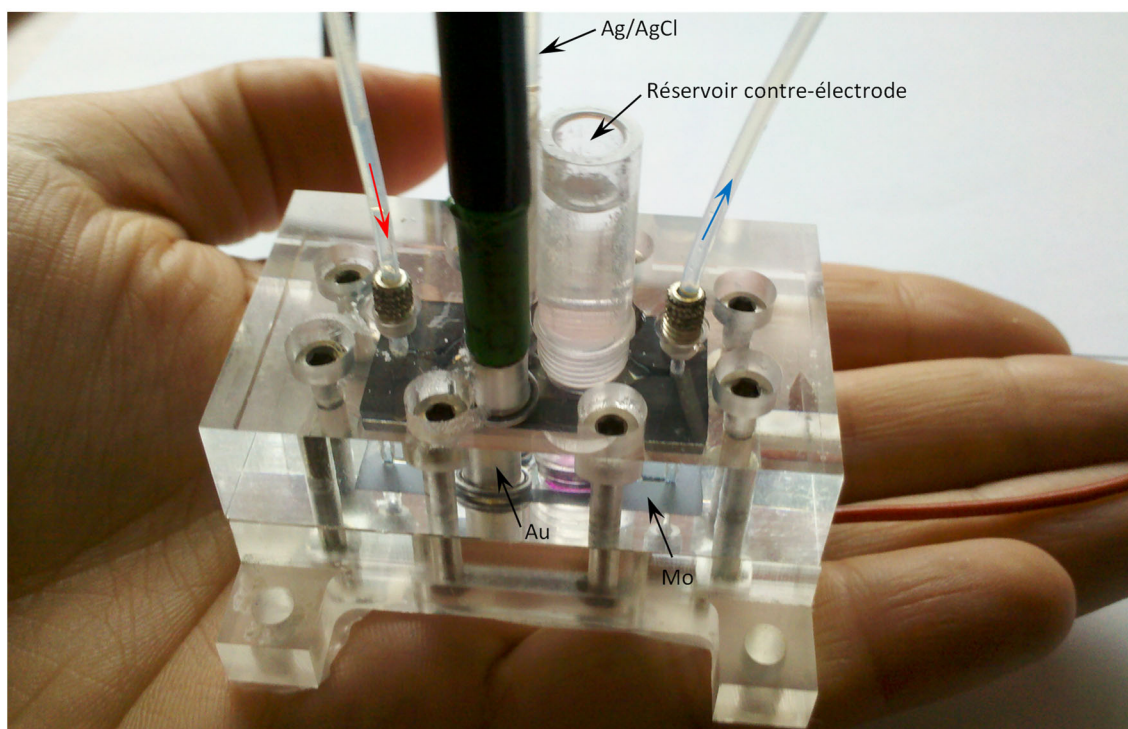


Figure II - 11 : Prototype de faible volume à cellule unique

Ce prototype est alimenté par une pompe solénoïde Lee-Company® injectant 50 μL d'eau de mer à chaque impulsion soit un débit de 200 $\mu\text{L s}^{-1}$ dans son fonctionnement nominal. L'électrode de

molybdène est placée au fond de la cuve de mesure dont la surface est choisie grande (135,45 mm²) devant le volume de l'échantillon afin d'atteindre la charge électrique nécessaire le plus rapidement possible. L'électrode de travail en or, la référence en argent, recouverte de chlorure d'argent (AgCl) sont placées sur la partie supérieure du prototype ainsi que la membrane Nafion® connectée à un réservoir rempli d'eau de mer dans lequel la contre-électrode (tourbillon en Platine) est insérée.

Pour un potentiel imposé de 0,8 V/Ag/AgCl/Cl⁻ (0,6M) sur l'électrode Mo, l'intensité recueillie était proche de 80 mA et la charge électrique optimale de fin d'électrolyse a été déterminée à 0,8 C en mesurant le pH en fin d'électrolyse à l'intérieur de la cellule. Cette charge optimale est atteinte plus ou moins rapidement (entre 30 secondes et 20 minutes) selon la présence ou non de bulles d'air au contact de la membrane. Ce problème récurrent de bulles d'air entraîne une mauvaise conductivité électrique et donc des temps d'électrolyse très longs.

De plus, l'oxydation du molybdène est localisée en regard de la membrane Nafion® (Figure II-12) du fait des lignes de champs. La faible surface de la membrane en contact avec la solution, comparée à la surface du molybdène, limite le passage du courant. Cette oxydation localisée pose plusieurs problèmes pour le capteur : premièrement une inhomogénéité de la solution où les H⁺ et MoO₄²⁻ sont formés que d'un seul côté de la cellule entraînant un temps de complexation des silicates très long et deuxièmement la formation d'une cavité ou piquûre à la surface du molybdène au fur et à mesure des cycles d'oxydation.



Figure II - 12 : Electrode de Mo après oxydation dans le prototype n°1 à cellule unique

La détection du complexe silicomolybdique formé a néanmoins été possible par voltammétrie cyclique sur l'électrode d'or et a permis d'obtenir une droite d'étalonnage dans la gamme de concentration en silicate comprise entre 8,5 et 141 µmol L⁻¹ ($I_{pic1} = -0,26 [Si] - 6,13$ et $I_{pic2} = -0,74 [Si] - 1,59$).

L'agencement de l'électrode Mo par rapport à la membrane et la contre-électrode fermant le circuit (ligne de champ), ainsi que leur ratio de surfaces sont des paramètres primordiaux pour la réalisation mécanique du capteur. Les performances de ce premier prototype n'étant pas satisfaisantes, j'ai donc proposé la réalisation d'un deuxième prototype comprenant cette fois 2 cuves distinctes : une cuve pour l'oxydation et la formation du complexe et une cuve pour sa détection.

II.1.3 - Prototype faible volume à 2 cellules séparées

Le prototype de laboratoire conçu en PMMA (Polyméthacrylate de méthyle) à l'atelier du GIS de l'OMP est présenté sur la Figure II-13 [44]. L'ensemble du circuit est alimenté par une micro-pompe de chez Lee-Company (50 μL par impulsion) contrôlée par une carte électronique connectée à un potentiostat μ -autolab III de chez Metrohm. La première cellule dite cellule de complexation de 365 μL comprend une électrode de travail en Molybdène de 135,45 mm^2 . Une grille de platine servant de contre électrode et une électrode de référence (fil d'argent recouvert de chlorure d'argent (AgCl)) sont isolées derrière la membrane Nafion[®] de 180 μm dans le réservoir visible sur la Figure II-13.

Le complexe formé après oxydation de l'électrode de molybdène est ensuite transféré dans la cellule de détection de 91 μL au moyen de la pompe afin d'y être détecté sur l'électrode de travail en or. Le ratio des volumes entre les 2 cellules a été choisi afin de limiter la dilution de l'échantillon de silicate complexé par l'injection conjointe d'eau de mer (non modifiée) lors du transfert vers la cellule de détection.

Dans un premier temps j'ai isolé la contre-électrode (en platine) derrière une membrane Nafion[®] dans cette cellule de détection également dans l'éventualité de formation de gaz à sa surface lors d'étape de nettoyage de l'or qui serait problématique à haute pression. Néanmoins, aucune formation de gaz n'ayant été observée lors des tests en laboratoire, la contre-électrode est donc placée à l'intérieur de la cellule détection avec les 2 autres électrodes (suppression de la membrane) dans la version intégrée du capteur. L'agencement spatial des électrodes dans chacune des cellules est schématisé au bas de la Figure II-13.

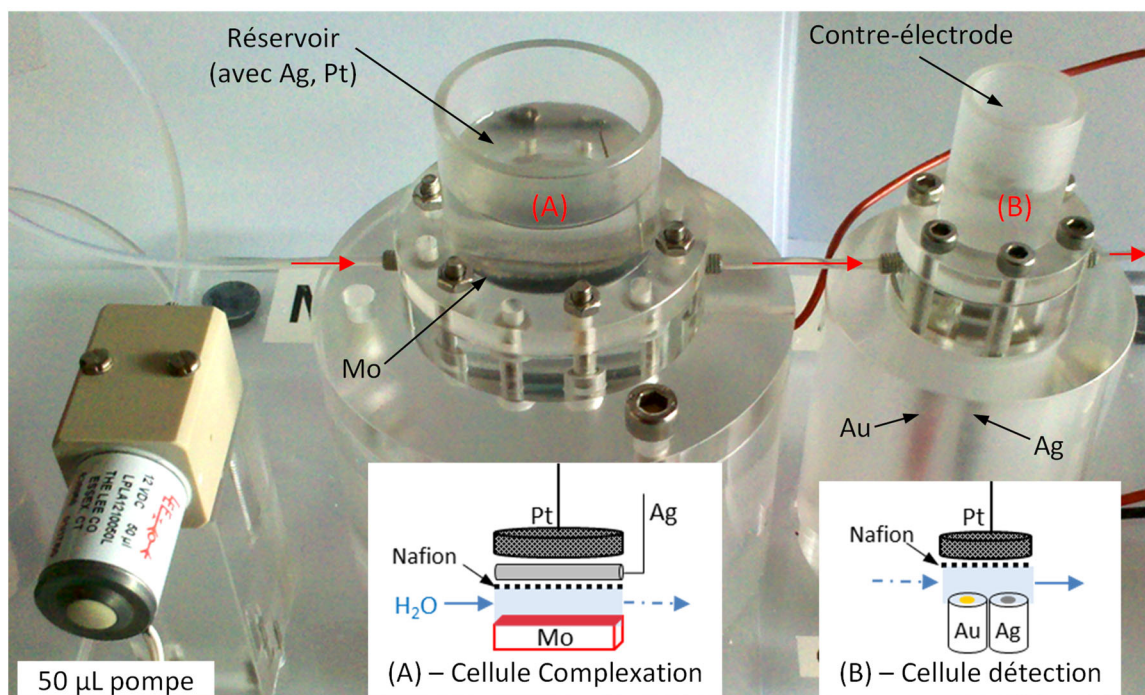


Figure II - 13 : Prototype de laboratoire pour la détection des silicates et représentation schématique de l'agencement spatial des électrodes dans (A) la cellule de complexation et (B) la cellule de détection - à gauche : la pompe solénoïde Lee-Co®

Le débit de la pompe Lee-Co® est un paramètre crucial pour assurer un transfert du complexe silicomolybdique formé dans la première cellule vers la cellule de détection sans dilution de l'échantillon. Or, dans son fonctionnement nominal (2 Hz), tel que fourni par la société Lee-Company®, le débit est d'environ $200 \mu\text{L s}^{-1}$, correspondant à un écoulement plutôt turbulent d'après le calcul du nombre de Reynolds $Re_{w(200\mu\text{L/s})} = 20 (>> 1)$ basé sur les dimensions de la cuve et le temps de voyage de l'échantillon (Eq. II-6) :

$$Re_w = \frac{Q.w}{h.v.l} \quad (\text{II} - 6)$$

avec Q le débit du fluide ($\text{m}^3 \text{s}^{-1}$), v la viscosité cinématique du fluide ($10^{-6} \text{m}^2 \text{s}^{-1}$), w la largeur ($8 \cdot 10^{-3} \text{m}$), h la hauteur ($2,7 \cdot 10^{-3} \text{m}$) et l la longueur ($2,5 \cdot 10^{-2} \text{m}$) de la cellule de complexation.

A ce débit, les résultats obtenus sur la Figure II-14 comparant les voltammogrammes cycliques obtenus dans une solution de $101 \mu\text{mol L}^{-1}$ de silicates dilués dans NaCl ($34,5 \text{g L}^{-1}$) avec la cellule ouverte (sans

dilution) en rouge et avec le prototype double cellule pour un débit de $200 \mu\text{L s}^{-1}$ en noir montrent clairement une diminution du signal électrochimique et donc une dilution de la solution. Au lieu de transférer le complexe silicomolybdique dans la cellule de détection, de l'eau de mer non modifiée est injectée sous forme de jet dans tout le circuit.

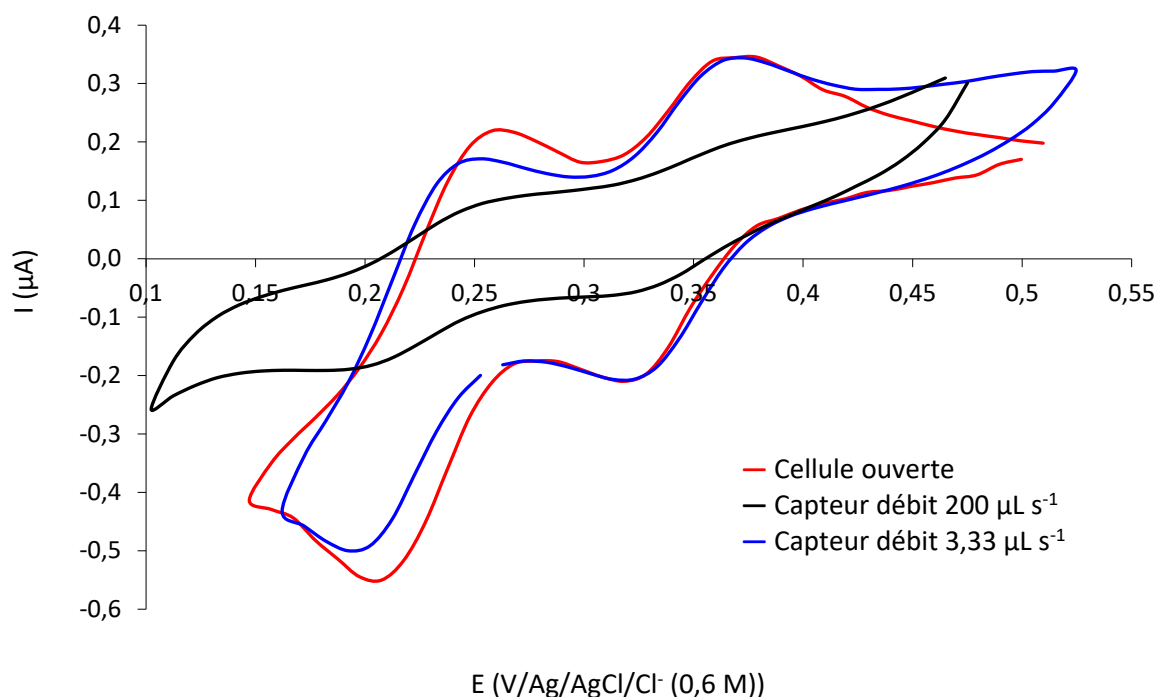


Figure II - 14 : Voltammogrammes cycliques à 100 mV s^{-1} enregistrés sur Au ($\varphi = 1 \text{ mm}$) dans une solution de $[\text{Si}(\text{OH})_4] = 101 \mu\text{mol L}^{-1}$ dans NaCl ($34,5 \text{ g L}^{-1}$ avec (rouge) la cellule ouverte, et le prototype à 2 cellules pour (noir) un débit de $200 \mu\text{L s}^{-1}$ après transfert de $50 \mu\text{L}$ et (bleu) un débit de $3,3 \mu\text{L s}^{-1}$ après transfert de $100 \mu\text{L}$

Afin de tendre vers un régime laminaire avec un écoulement piston dans le système, soit un $\text{Re}_w \leq 1$, il faut diminuer le débit de la pompe. Pour ce faire, une perte de charge est créée en diminuant le diamètre interne du tube en sortie de pompe (entrée cuve complexation) à $0,3 \text{ mm}$, en conservant un diamètre de $0,81 \text{ mm}$ en entrée de pompe. Dans cette configuration, le débit est de $3,3 \mu\text{L s}^{-1}$ avec un nombre de Reynolds $\text{Re}_{w(3.3\mu\text{L/s})} = 0,4$ caractéristique d'un écoulement laminaire ou pseudo-laminaire. Ce résultat se confirme sur la Figure II-14, en bleu, où le signal obtenu à $3,3 \mu\text{L s}^{-1}$ est identique, pour le premier pic de réduction, au résultat obtenu avec une cellule ouverte (solution homogène).

La configuration suivante a donc été validée pour être adaptée dans une version intégrée et immergeable du capteur :

- une cellule de complexation d'au moins 370 μL ,
- une cellule de détection inférieure à 100 μL ,
- un tube de prélèvement de l'eau en mer en entrée de pompe de 0,81 mm de diamètre interne,
- un tube en sortie de pompe, entrée de la cellule complexation de 0,3 mm de diamètre interne et 50 cm de long,
- et 4 cm de tube à 0,3 mm de diamètre interne entre la cellule de complexation et celle de détection.

II.1.4 - Développement de l'électronique embarquée

Ce travail a été initié avec le LAAS dans le cadre du projet MAISOE (2009-2013) puis en collaboration avec la PME française nke Instrumentation (siège social basé à Hennebont (56700)) avec qui je collabore depuis 2013.

L'électronique embarquée contrôle l'ensemble des étapes nécessaires à l'alimentation en eau du circuit (prélèvement de l'échantillon, transfert et nettoyage du circuit), à la détection des silicates (oxydation Mo, temps de complexation et détection) et au stockage des données. Une interface permet de définir l'ensemble des paramètres de mesure et de récupérer les données.

La comparaison des signaux obtenus avec la carte électronique (en rouge) et un potentiostat μ -Autolab III de chez Metrohm® (en noir) présentée sur la Figure II-15 et enregistrés dans une solution à 101 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de silicate avec les mêmes électrodes et la cellule ouverte, montrent des formes et intensités de pics très semblables.

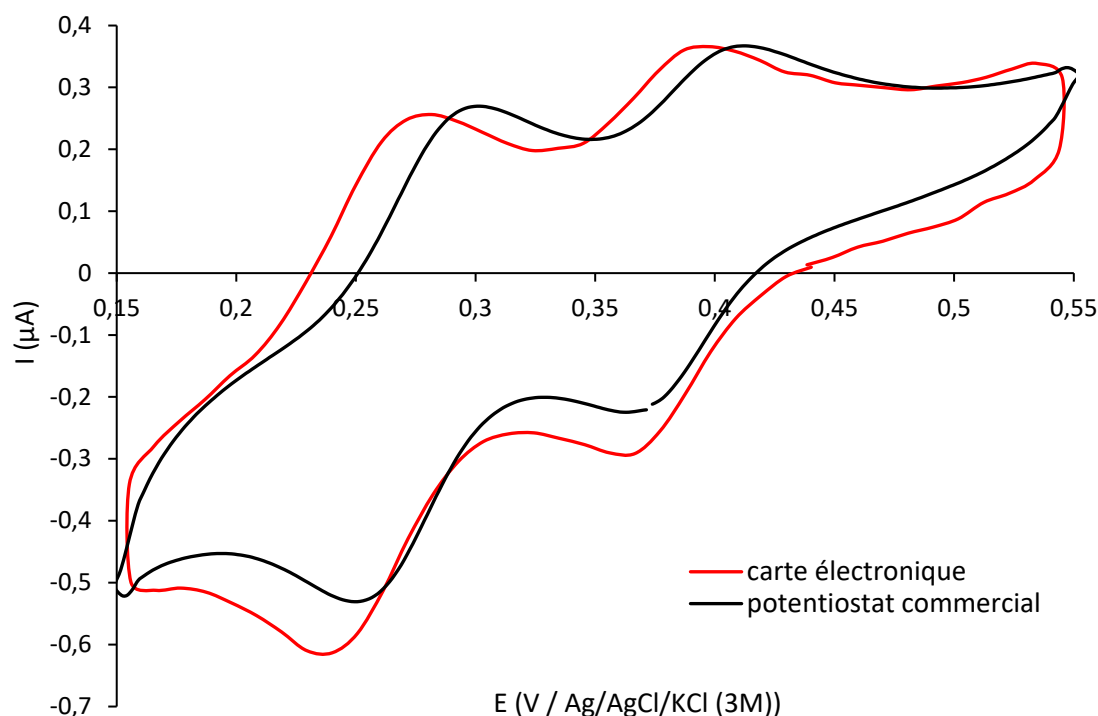


Figure II - 15 : Voltammogrammes cycliques sur Au ($\varphi = 1$ mm) à 100 mV s^{-1} dans $101 \mu\text{mol L}^{-1}$ de silicates dilués dans NaCl ($34,5 \text{ g L}^{-1}$) utilisant (rouge) la carte électronique capteur et (noir) un potentiostat commercial Metrohm

II.2 – Capteur Silicate intégré, immergeable

Une première version de capteur intégré, basée sur le principe de 2 cellules distinctes (complexation et détection), utilisant l'électronique validée sur paillasse et la fabrication par résinage des électrodes (réalisées au LEGOS), a été développée et conçue en collaboration avec nke Instrumentation. Si un déploiement a pu être effectué en mer jusqu'à 25 m de fond, validant ainsi la résistance à la pression (préalablement testée en laboratoire dans une colonne de pression équipée d'un manomètre Keller-Druck LEX1 jusqu'à 20 bars) et le fonctionnement de l'électronique, ce capteur a très vite été modifié et amélioré dans sa conception mécanique pour des raisons de praticité d'utilisation. Il est en effet essentiel de pouvoir extraire facilement les électrodes afin de les reconditionner, de pouvoir changer les tubes d'alimentation en eau, la membrane etc... ce qui n'est pas possible avec cette version sans ouvrir le compartiment étanche (contenant l'électronique) du capteur ce qui nécessite de réeffectuer tous les tests d'étanchéités par la suite.

J'ai choisi de présenter ici directement la version mécanique du capteur silicate qui a permis de lever des verrous technologiques et scientifiques dans le développement instrumental en milieu marin.

II.2.1 - Présentation

Le capteur pour la détection *in situ* des silicates, présenté sur la Figure II-16, est un cylindre en aluminium anodisé de 90 mm de diamètre par 250 mm de haut pour un poids dans l'air de 2,2 kg [44]. La tige inférieure avec le connecteur et les cellules électrochimiques sur la partie supérieure sont en PEEK (polyether ether ketone). Le dessus du capteur est en polyamine PA 6,6 GF30. La pompe solénoïde Lee-Company® est placée dans un réservoir rempli d'une huile diélectrique et équipé d'une membrane visible en façade du capteur sur la Figure II-16 (gauche), afin d'être en équipression. L'électronique se trouve quant à elle dans un compartiment sec. La résistance à la pression de la structure mécanique du capteur a été validée jusqu'à 60 bars (600 mètres de profondeur) en utilisant une colonne de pression. Les volumes des cellules de complexation et détection sont très proches de ceux du prototype de laboratoire à double cellules, soit respectivement 376 et 94 μL . Les mêmes diamètres et longueurs de tubes pour la pompe que ceux optimisés et validés au laboratoire ont été utilisés dans ce capteur. L'électrode de molybdène est placée au fond de la cellule de complexation alors que la contre-électrode (grille en titane) et le fil en argent chloré servant de référence sont placés derrière la membrane Nafion®. Dans la cellule de détection, les 3 électrodes : disque d'or (électrode de travail), disque d'argent chloré (électrode de référence) et disque de platine (contre-électrode) de 3 mm de diamètre chacun sont résinés dans une même pièce en PEEK. Toutes les électrodes sont simplement branchées « plug-in » et peuvent donc être facilement récupérées pour être reconditionnées ou remplacées, rendant ce capteur facile d'utilisation. L'instrument est également équipé d'un capteur de pression qui mesure la pression en début et en fin d'échantillonnage d'eau de mer et d'un capteur de température qui mesure la température de l'eau *in situ* au moment de la détection.



Figure II - 16 : Capteur électrochimique pour la détection *in situ* des silicates

La procédure de mesure complète schématisée sur la Figure II-17, comprenant le rinçage du circuit, le nettoyage *in situ* de l'électrode d'or (polarisation à $E = -0,2$ V/réf pendant 200 s), l'échantillonnage de l'eau de mer, l'oxydation du molybdène, la complexation des silicates, le transfert du complexe silicomolybdique formé et sa détection, nécessite 45 minutes. L'ensemble de ces actions est contrôlé par la carte électronique qui est paramétrée par ordinateur à l'aide d'une interface de commande développée par nke Instrumentation. Les données électrochimiques, de température et de pression sont stockées sur la carte électronique et téléchargeables via la connectique dédiée du capteur.

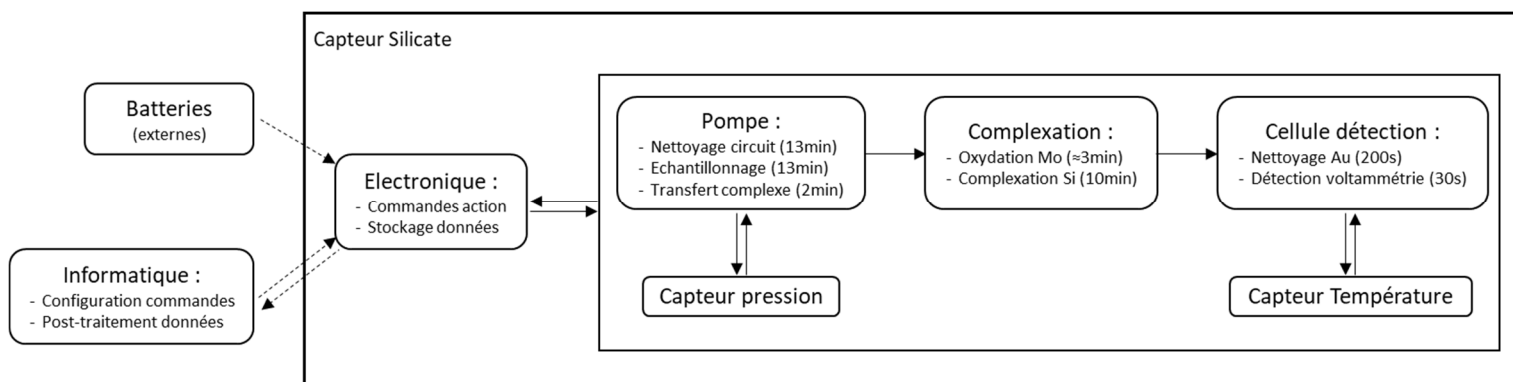


Figure II - 17 : Schéma de la procédure de fonctionnement du capteur Silicate

II.2.2 - Figures de mérite

II.2.2.1 - Etalonnage

Le capteur est étalonné avant utilisation à température ambiante à l'aide de solutions standard de SiO_2 (solution mère commerciale à $16693 \pm 83 \mu\text{mol L}^{-1}$) diluées dans de l'eau de mer artificielle de $\text{pH} \approx 8$ pour une salinité proche de 35, composée de NaCl ($32,74 \text{ g L}^{-1}$), de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($7,26 \text{ g L}^{-1}$) et de NaHCO_3 ($0,172 \text{ g L}^{-1}$). La courbe d'étalonnage du capteur présentée sur la Figure II-18 correspond à la concentration en silicate en fonction de l'intensité du premier pic de réduction à $E = 0,32 \text{ V/réf}$ mesurée sur les voltammogrammes cycliques enregistrées par le capteur après oxydation du Mo et post-traitées à l'aide du logiciel NOVA (Metrohm).

La gamme de concentration étudiée correspond aux concentrations classiquement observées dans l'océan ouvert, allant de quelques nanomolaires dans les eaux de surface jusqu'à $140 \mu\text{mol L}^{-1}$ en profondeur, avec de très fortes variabilités régionales et saisonnières [45-47]. Un changement de pente est observé sur la droite d'étalonnage (Figure II-18).

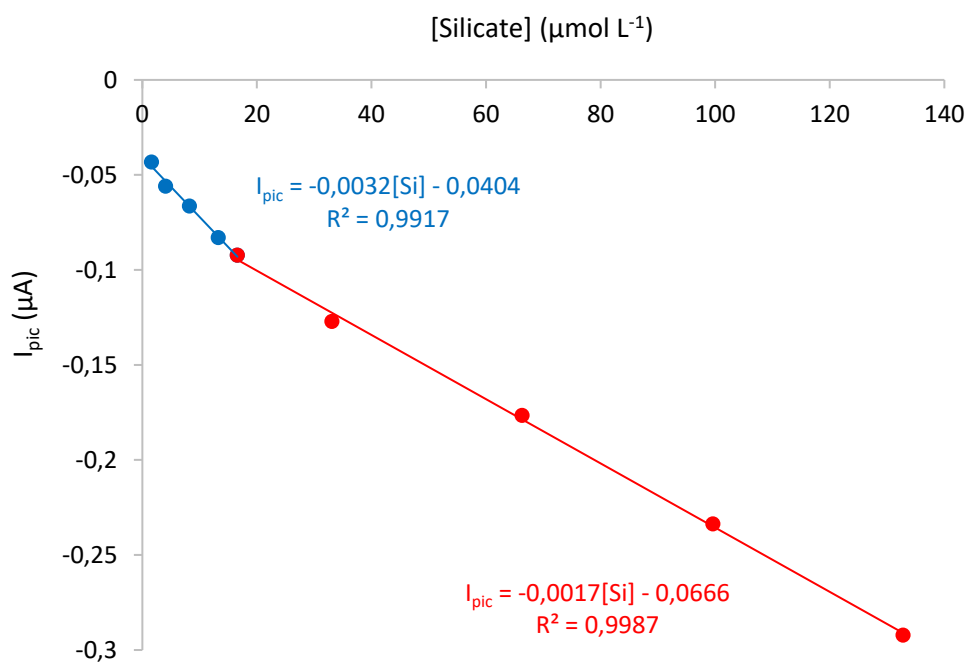


Figure II - 18 : Droite d'étalonnage du capteur entre 1,63 – 132,8 μmol L⁻¹ de silicates dilués de l'eau de mer artificielle

Des ruptures de pente similaires ainsi que des phénomènes de saturation du signal lorsque la concentration en silicate augmente (observé également pour les phosphates) ont également été observés dans la littérature pour des détections électrochimiques [16,36,38,48,49] mais également colorimétriques [8,50]. Comme vu précédemment avec les phosphates, la formation d'hétéropolyoxomolybdates ainsi que leur réduction sont fortement dépendantes des conditions expérimentales (particulièrement le pH), des concentrations et formes de molybdates présents en solution et également des concentrations de l'atome central (ici le silicium) [16,20,29,32,33,39,40,51]. Plusieurs types de complexes peuvent se former et potentiellement s'assembler en structures polymériques à fortes concentrations [12,13,49]. B. Wang et S. Dong ont également montré que dans la structure de Keggin, l'atome central Si a une influence non-négligeable sur les réactions d'électrode du complexe silicomolybdique [42]. Ils ont conclu à un procédé contrôlé par la diffusion pour les fortes concentrations en silicate en solution alors que les signaux obtenus pour des concentrations bien plus faibles sont essentiellement influencés par l'adsorption d'une monocouche de complexe [42]. Le mécanisme de réduction est donc très complexe, les auteurs ne s'accordent même pas sur le nombre d'électron échangé. Carpenter *et al.* [11], Lacombe *et al.* [12,13], proclament que 2 puis 3 électrons sont échangés alors que pour [42,43,52-54] 2 électrons sont échangés pour chacune des 2 réductions en accord avec les résultats présentés précédemment.

Ainsi, la diminution de pente de la droite d'étalonnage (Figure II-18) obtenue aux plus fortes concentrations en silicate s'explique donc par la formation de structures de plus hautes valences et/ou d'hétéropolyoxomolybdates à grand encombrement stérique ralentissant la vitesse du transfert électronique. Un autre mécanisme pourrait également être mis en jeu pour les très faibles concentrations en silicate (< LOQ), expliquant que l'ordonnée à l'origine de la droite d'étalonnage soit non-nulle. Dans tous les cas, selon le signal électrochimique enregistré par le capteur, l'équation adéquate est utilisée pour calculer la concentration en silicate correspondante.

II.2.2.2 - Justesse et précision

Afin d'évaluer la précision et la justesse du capteur, des solutions de références appelées « Certified Reference Material » (CRM) ont été utilisées. Ces CRM, largement utilisées dans les laboratoires d'Océanographie pour valider les mesures, sont produites par la société japonaise KANSO en traitant des échantillons d'eau de mer naturelle selon un procédé de contrôle qualité ISO 17034 (JIS Q 17034) [55,56]. Les moyennes des concentrations en sels nutritifs (silicate, phosphate, nitrate et nitrite) sont calculées à partir de l'analyse colorimétrique de 30 bouteilles. Selon les normes ISO Guide 35 (JIS Q 0035), les écart-types correspondant sont quant à eux calculés à partir des résultats obtenus sur 180 bouteilles analysées en doublon. Les concentrations de référence ($[\text{Si}]_{\text{CRM_ref}}$), les incertitudes élargies ainsi que les salinités et densités des différents lots étudiés sont rassemblés dans le Tableau II-1. Seules les concentrations en silicate sont indiquées ici mais chaque échantillon est composé également de phosphate, nitrate et nitrite dont les compositions globales sont disponibles ici « http://www.kanso.co.jp/eng/production/available_lots.html ».

Tableau II - 1 : Concentrations en silicate, salinité et densité des lots de CRM utilisés

	Valeur certifiée \pm écart-type ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	Incertitude élargie ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	Salinité (psu ⁺)	Densité	$[\text{Si}]_{\text{CRM_ref}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
Lot. CK*	$0,73 \pm 0,006$	0,08	35,211	1,0249	0,75
Lot. CL	$13,8 \pm 0,012$	0,3	34,685	1,0245	14,1
Lot. CC	$86,16 \pm 0,052$	0,48	34,338	1,0243	88,25
Lot. CB	$109,2 \pm 0,052$	0,62	34,374	1,0243	111,9

* Note de KANSO: la concentration en Silicate pour CK est inférieure à la limite de quantification, valeur à utiliser donc comme guide.

⁺psu : practical salinity unit

Chaque lot a été analysé en doublon par le capteur électrochimique silicate, excepté pour le lot CL où 31 mesures ont été réalisées afin d'évaluer la répétabilité du capteur. Les concentrations en silicate sont déterminées en utilisant la droite d'étalonnage précédente (Figure II-18). Les moyennes des concentrations en silicate ($\overline{[Si]}_{CRM_anal}$), leurs écart-types (s) et coefficients de variation (CV) respectifs obtenus sont rassemblés dans le Tableau II-2 ainsi que l'évaluation des biais, les incertitudes globales et la justesse.

Tableau II - 2 : Evaluation de la répétabilité, la justesse et la précision du capteur silicate

	$\overline{[Si]}_{CRM_anal} \pm s^* (\mu\text{mol L}^{-1})$ (CV %)	Evaluation du Biais	Incertitude globale	Justesse
		$t_{(95\%)} \cdot SD/\sqrt{N} / \overline{[Si]}_{CRM_anal} - [Si]_{CRM_réf} $		
Lot. CK	0,78 \pm 0,01 (1,7%)	0,12 > 0,04	8,3%	95,3%
Lot. CL	14,05 \pm 0,13 (0,9%)	0,05 < 0,09	2,4%	99,4%
Lot. CC	86,00 \pm 0,67 (0,8%)	5,98 > 2,25	4,1%	97,4%
Lot. CB	111,95 \pm 0,24 (0,2%)	2,17 > 0,09	0,5%	99,9%

* Ecart-type (s) : 2 mesures ont été utilisées pour déterminer les écart-types, excepté pour le lot CL où 31 mesures ont été réalisées.

L'incertitude globale (Eq. II-7) cumule l'erreur systématique (biais) et l'erreur de reproductibilité (s).

$$\text{Incertitude globale} = \frac{|\overline{[Si]}_{CRM_anal} - [Si]_{CRM_réf}| + 2 \cdot s}{[Si]_{CRM_réf}} (\%) \quad (\text{II} - 7)$$

où $\overline{[Si]}_{CRM_anal}$ et $[Si]_{CRM_réf}$ représentent respectivement la moyenne de la concentration en silicate analysée avec le capteur et la valeur de référence de la CRM donnée par le fournisseur KANSO indiquée dans le Tableau II-1.

La justesse (Eq. II-8) est définie par [100 - Erreur Relative (%)] :

$$\text{Justesse} = 100 - \frac{|\overline{[Si]}_{CRM_anal} - [Si]_{CRM_réf}|}{[Si]_{CRM_réf}} (\%) \quad (\text{II} - 8)$$

Il n'existe aucun biais pour les lots CK, CC et CB, le terme $(t_{(95\%)} \cdot SD/\sqrt{N})$ étant supérieur à $(|\overline{[Si]}_{CRM_anal} - [Si]_{CRM_réf}|)$ avec $t_{(95\%)}$ la valeur d'une distribution t-Student pour un intervalle de confiance de 95 % et N le nombre de mesures. Un léger biais est détecté pour le lot CL dû au grand nombre d'analyses réalisées (N = 31). Néanmoins l'écart-type et le coefficient de variation obtenus sur la moyenne de la concentration sont très faibles ainsi que l'incertitude globale.

Les résultats obtenus avec le capteur pour les incertitudes globales et les justesses pour l'ensemble des lots testés sont très bons. La plus forte incertitude globale est logiquement observée pour la plus faible concentration en silicate (lot CK), inférieure même à la limite de quantification de notre capteur mais également pour la méthode colorimétrique utilisée par KANSO, rendant le résultat obtenu très acceptable.

II.2.2.3 – Sensibilité et répétabilité

Afin de déterminer les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ), une faible concentration en silicate a été analysée avec le capteur 26 fois. Une valeur a été discréditée par un test de Dixon [57]. La moyenne sur l'échantillon et son écart-type (s) obtenus sont : $\overline{[Si]}_{low} = 1,93 \pm 0,11 \mu\text{mol L}^{-1}$. A partir de cette moyenne, la limite de détection définie par 3 fois l'écart-type et la limite de quantification comme 10 fois l'écart-type, sont respectivement :

$$LOD = 0,32 \mu\text{mol L}^{-1}$$

$$LOQ = 1,08 \mu\text{mol L}^{-1}.$$

Le ratio de conformité (R) défini par l'équation II-9, permet de déterminer la validité de la méthode de calcul. Si la concentration choisie est adéquate, le ratio doit être compris entre 4 et 10. Lorsque $R < 4$, la concentration analysée est trop faible et la limite de détection réelle est plus élevée que la limite de détection estimée par le calcul. Au contraire si $R > 10$, la concentration analysée est trop élevée et la limite de détection donc est sous-estimée.

$$R = \frac{\overline{[Si]}_{low}}{LOD} = \frac{\overline{[Si]}_{low}}{3 \times s} \quad (II - 9)$$

Dans notre cas, le ratio de conformité obtenu est de $R = 6$, validant la méthode et la valeur de la LOD calculée.

Le test de répétabilité effectué avec la solution de référence CRM, lot CL (N = 31 mesures), permet d'estimer la moyenne de la population (μ notée ici $[Si]_{\mu_CL}$) en calculant son intervalle de confiance à partir de la moyenne de l'échantillon (\bar{x} notée ci-avant $\overline{[Si]}_{CRM_anal}$) qui est défini par l'équation II-10.

$$\bar{x} - \frac{t \times s}{\sqrt{N}} < \mu < \bar{x} + \frac{t \times s}{\sqrt{N}} \quad (II - 10)$$

avec t le coefficient de Fisher-Student dépendant du nombre de mesures, s l'écart-type calculé sur l'échantillon analysé. En considérant des degrés de confiance de 95 % et 99 %, les moyennes de la population pour la CRM_CL sont respectivement :

$$14,00 \mu\text{mol L}^{-1} < [Si]_{\mu_CL_95\%} < 14,10 \mu\text{mol L}^{-1}$$

$$13,99 \mu\text{mol L}^{-1} < [Si]_{\mu_CL_99\%} < 14,11 \mu\text{mol L}^{-1},$$

ce qui est en très bon accord avec la valeur de référence de $[Si]_{CRM_CL_réf} = 14,1 \pm 0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$ indiqué par le fournisseur, avec des variances sur l'intervalle encadrant les moyennes vraies (μ) relativement faibles ($\pm 0,05$ et $\pm 0,06 \mu\text{mol L}^{-1}$).

II.2.2.4 – « Recovery tests »

Afin d'évaluer l'influence éventuelle de la matrice (eau de mer naturelle) sur la détermination de la concentration en silicate, des tests de récupération ou « recovery tests » ont été réalisés avec les solutions CRM pour les lots CK et CC.

A une solution de CRM, une quantité connue, précise, d'une solution mère commerciale de silicate SiO_2 ($[Si]_{ajout}$) a été ajoutée. Chaque échantillon de CRM avant et après dopage a été analysé par le capteur 2 fois. Les concentrations obtenues ont été déterminées en utilisant la calibration de la Figure II-18 qui a été construite quant à elle, à partir de solutions standard diluées dans de l'eau de mer artificielle. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau II-3. Le taux de récupération (% recovery) est défini par l'équation II-11 :

$$\% \text{ recovery} = \frac{\overline{[Si]}_{Total}}{\overline{[Si]}_{CRM_anal} + [Si]_{ajout}} \quad (II - 11)$$

ou $\overline{[Si]}_{\text{Total}}$ est la moyenne de la concentration en silicate dans l'échantillon de CRM dopé, analysé par le capteur. $\overline{[Si]}_{\text{CRM_anal}}^*$ correspond à la moyenne de la concentration en silicate dans l'échantillon de CRM seul (non dopé) analysé par le capteur ($\overline{[Si]}_{\text{CRM_anal}}$ indiqué dans le Tableau II-2) corrigé du facteur de dilution dû aux ajouts de solution mère de SiO_2 . Le volume ajouté est cependant considéré comme suffisamment faible pour négliger une dilution de la matrice eau de mer (réelle).

Tableau II - 3 : Tests de récupération

	$[Si]_{\text{ajout}} (\mu\text{mol L}^{-1})$	$\overline{[Si]}_{\text{Total}} \pm s (\mu\text{mol L}^{-1})$ (CV%)	% Recovery
Lot. CK	6,68	$7,47 \pm 0,24$ (3%)	100,1%
	13,35	$14,10 \pm 0,31$ (2%)	99,7%
Lot. CC	20,70	$104,37 \pm 0,81$ (1%)	97,9%
	41,40	$126,15 \pm 0,88$ (1%)	99,2%

De très bons taux de récupération ont été obtenus, de 97,9 % à 100,1 %, que ce soit pour des faibles ($0,75 \mu\text{mol L}^{-1}$) ou des fortes concentrations ($88,25 \mu\text{mol L}^{-1}$) en silicates et des salinités également différentes (35,211 et 34,338), indiquant l'absence d'effet de matrice sur le procédé de détermination de la concentration en silicate avec le capteur électrochimique (calibration avec de l'eau de mer artificielle).

L'ensemble des figures de mérite et caractérisations du capteur silicate présentés dans ce chapitre illustrent les très bonnes performances de mesure obtenues avec celui-ci [58]. L'ultime étape de validation de l'instrument reste la mise à l'eau du capteur afin d'évaluer ses performances en conditions réelles.

III – Déploiements *in situ* et validation du capteur Silicate

Afin de valider les performances du capteur en milieu eau de mer et de s'assurer de la véracité des données recueillies par le capteur, j'ai organisé et participé en tant que chef de mission à 4 déploiements *in situ* du capteur Silicate. Une série d'intercomparaison avec des mesures

colorimétriques a été réalisée en Mer Méditerranée [58]. Un autre déploiement, non présenté ici, avait permis de confronter les résultats obtenus par le capteur silicate avec les données physiques et météorologiques rendant compte des processus océanographiques s'établissant dans la zone d'étude : l'upwelling au large de Coquimbo, Chili [44]. Enfin le déploiement de 2 unités synchronisées du capteur silicate dans l'océan pacifique a permis d'évaluer la reproductibilité du capteur.

III.1 – Intercomparaison avec la colorimétrie dans l'étang de Thau (Méditerranée)

Le capteur Silicate présenté sur la Figure II-16 a été déployé dans l'étang de Thau à 1,6 mètres de profondeur depuis un ponton de la Station Marine de Sète entre les 8 et 12 juillet 2019 (Figure II-19). L'étang de Thau est un lagon côtier peu profond (4 mètres de profondeur de moyenne), localisé sur la rive Nord-Ouest de la Mer Méditerranée (43°24'00" N, 3°36'00" E), relié à celle-ci par 3 canaux étroits. Le site d'étude est caractérisé par des fluctuations saisonnières importantes de la température et de la salinité de l'eau (respectivement d'environ 4 à 29°C et 28,5 à 40 psu [59]) et est fortement affecté par les conditions météorologiques qui entraînent une large variabilité de la concentration en nutriments (dont les silicates) [60]. Des rejets de nutriments, suivis par des augmentations significatives de la production primaire, sont notamment observés lors de crues fluviales [61].

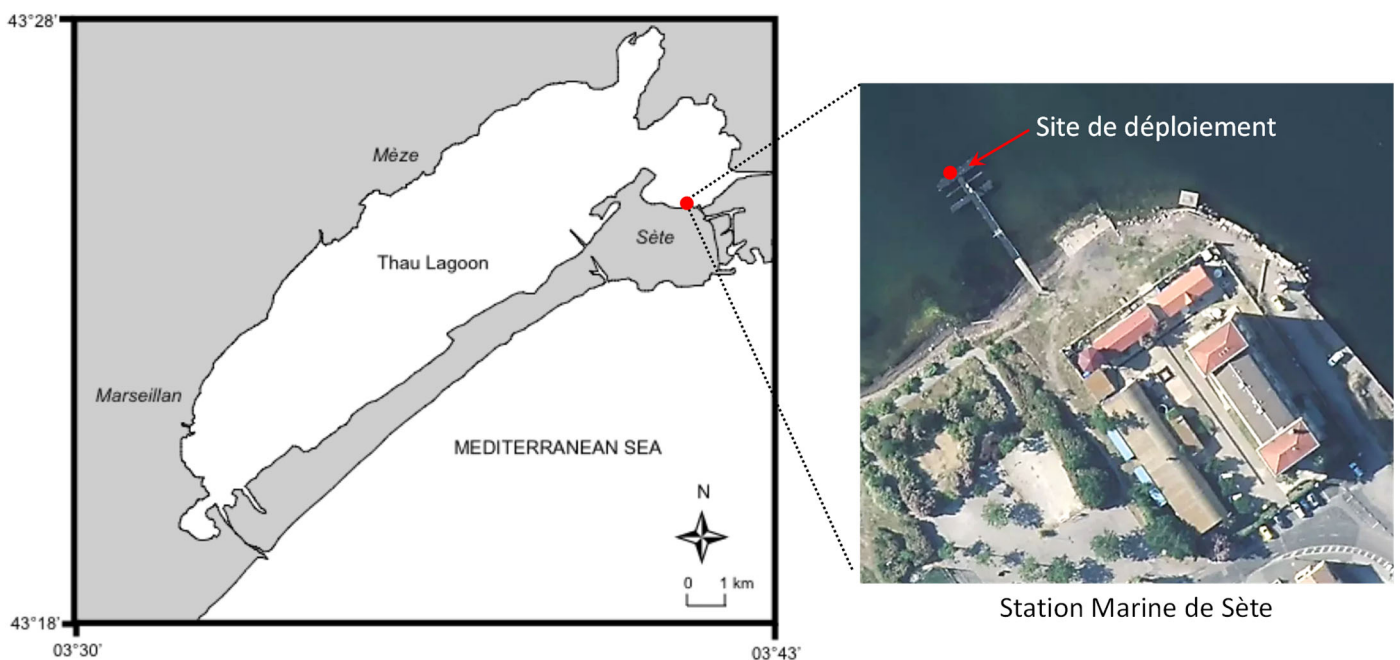


Figure II - 19 : Site de déploiement du capteur Silicate dans l'étang de Thau (●)

L'amplitude des marées étant inférieure à 1 mètre, ce sont donc le vent, qui joue un rôle important dans l'hydrodynamique [62], et la température qui représentent les principaux vecteurs de brassage vertical de l'eau dans l'étang. En été (juillet, août), une faible vitesse de vent ($< 5 \text{ m s}^{-1}$) accompagnée par des températures et salinités élevées de l'eau (environ 30°C et salinité supérieure à 38) sont observées, entraînant un appauvrissement en oxygène des eaux de fond (anoxie). Dans ces conditions anoxiques, la gamme de concentration en silicate varie de quelques micromolaires à environ $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ [63,64].

Pendant les quatre jours de déploiement, 102 données ont été enregistrées par le capteur qui a fonctionné en continu, analysant un échantillon toutes les 45 minutes. Les voltammogrammes cycliques enregistrés par le capteur ont été post-analysés au laboratoire à l'aide du logiciel NOVA (Metrohm). Les intensités du premier pic de réduction du complexe silicomolybdique ont été converties en concentrations en utilisant la droite d'étalonnage réalisée avant le déploiement. La série temporelle de la concentration en silicate obtenue ainsi que la température de l'eau mesurée *in situ* par le capteur sont présentées sur la Figure II-20. Les triangles rouges correspondent à la concentration en silicate déterminée par la méthode de référence colorimétrique [65] sur 8 échantillons d'eau prélevés à la même profondeur que le capteur et analysés à la station marine de Sète. La salinité mesurée sur ces échantillons d'eau à l'aide d'un capteur de conductivité / salinité (modèle EC300, VWR), est indiquée en bleu.

La concentration en silicate varie de $8,90$ à $25,19 \mu\text{mol L}^{-1}$ et la température à $1,6$ mètre de profondeur de $25,01$ à $28,74^\circ\text{C}$. Le capteur a besoin de 13 minutes pour échantillonner l'eau de mer. Par conséquent, les données de la concentration en silicate sur la Figure II-20 sont tracées en fonction de la moyenne du temps d'échantillonnage (heure locale : UTC + 2). Pour les mesures colorimétriques au contraire, il s'agit du temps réel et instantané au moment de l'échantillonnage de l'eau de mer.

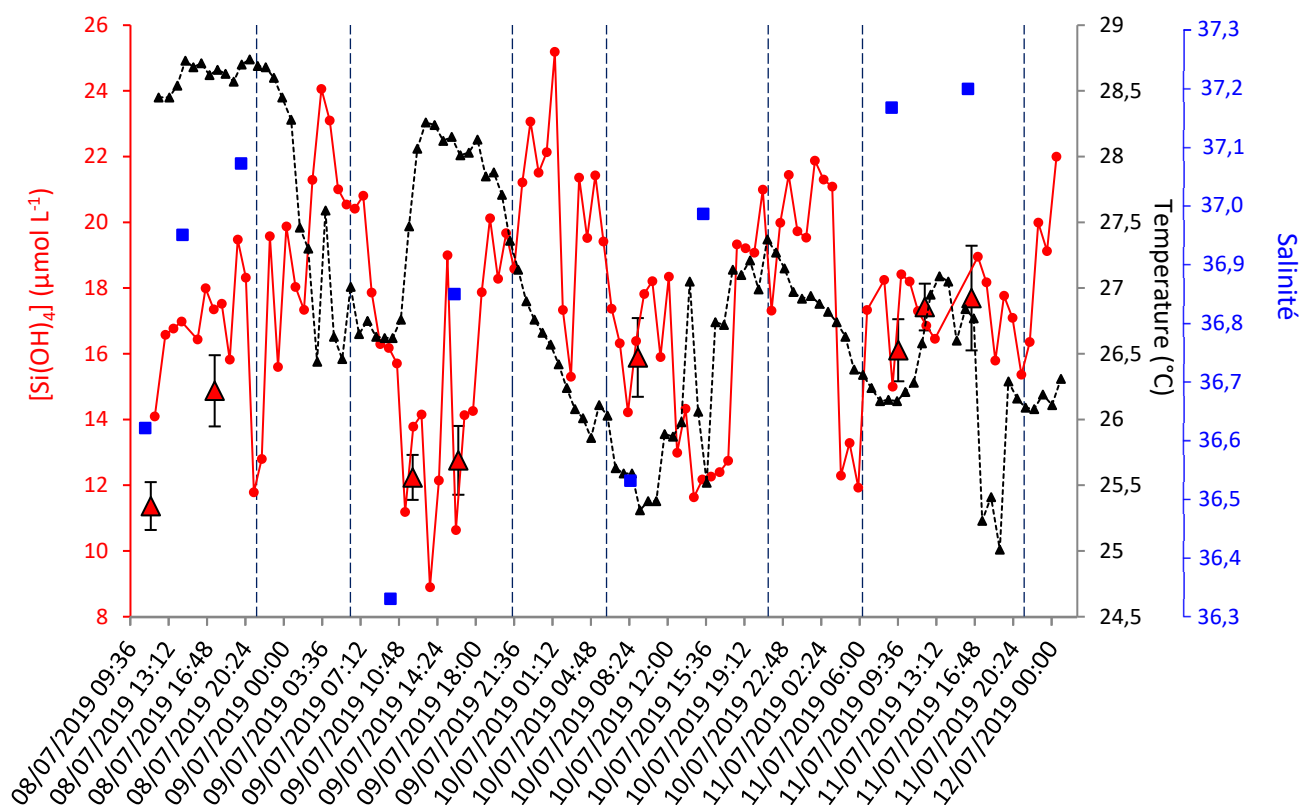


Figure II - 20 : Evolution temporelle (heure locale UTC+2) de la concentration en silicate (●) et la température (▲) mesurées par le capteur à 1,6 m de profondeur dans l'étang de Thau - Concentration en silicate déterminée par la méthode de référence colorimétrique (▲) et salinité (■) mesurées sur des échantillons d'eau prélevés à la profondeur de déploiement

La température de l'air et la vitesse du vent pendant la période de déploiement ont également été mesurées respectivement avec une sonde de température (modèle HMP45C, Campbell Scientific) et un moniteur de vent (modèle 05103-L, Campbell Scientific), tous deux fixés sur le ponton de la station marine. Les données obtenues sont indiquées sur la Figure II-21.

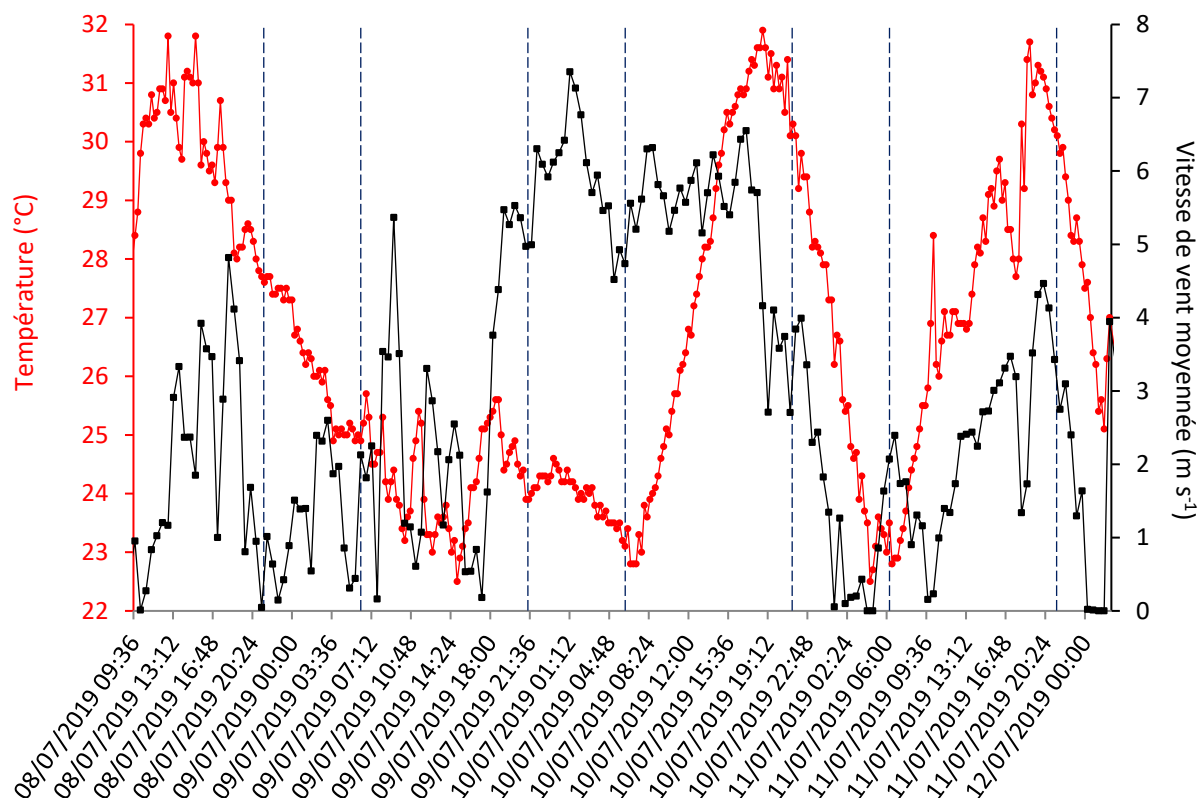


Figure II - 21 : Evolution temporelle (heure locale UTC+2) de la température de l'air (●) et de la vitesse du vent de surface (moyennée sur 30 minutes) (■) mesurées sur le ponton de la station marine pendant la période de déploiement.

Les lignes pointillées verticales sur les Figures II-20 et II-21 indiquent les couchers et levers de soleil délimitant les jours et les nuits.

Au cours de la période de déploiement, une bonne corrélation a été obtenue entre les données du capteur et les mesures colorimétriques, illustrant l'absence de dérive du capteur après ces quatre jours de mesure. Seule la première valeur enregistrée par le capteur semble éloignée de la valeur de référence (colorimétrie), néanmoins il y a 30 minutes d'écart entre l'échantillonnage pour la mesure colorimétrique et le début de l'échantillonnage réalisé par le capteur. De plus, la concentration en silicate ainsi que la salinité étaient en phase d'augmentation. Le résultat obtenu est donc plutôt cohérent.

La comparaison des données mesurées durant les jours ou les nuits montrent des concentrations en silicate plus élevées pendant la nuit que pendant la journée, ce qui a précédemment été observé par

Throuzeau *et al.* [66]. À la lumière du jour, dans la partie supérieure de la zone euphotique*, les silicates sont consommés par le phytoplancton pour sa croissance, expliquant la diminution de la concentration observée dans les eaux de surface. Pendant la nuit, l'augmentation de la concentration en silicate peut s'expliquer par un mélange vertical dans la colonne d'eau, dû au vent et aussi à la stratification liée à la diminution à la fois de la température de surface de l'eau et de l'air (voir Figure II-21 : nuits du 8 au 9 juillet et dans une moindre mesure du 10 au 11 juillet). Ceci induit un relargage de silicate en suspension dans le sédiment. Le maxima de la concentration en silicate à $25,19 \mu\text{mol L}^{-1}$ (Figure II-20) mesuré dans la nuit du 9 au 10 juillet est en effet corrélé à une augmentation de la vitesse du vent de surface, comme le montre la Figure II-21. La reminéralisation ou la régénération du silicate dans la colonne d'eau peut également participer à l'augmentation de la concentration en silicate durant la nuit.

III.2 – Déploiement au large de l'Île de Pâques dans le Pacifique

Deux unités de capteur silicate ont été déployées sur une ligne de mouillage au large de l'Île de Pâques (anse de Hanga Piko) dans l'Océan Pacifique. La cage en acier inoxydable supportant les 2 capteurs silicate et leur pack batterie respectif, présentée sur la Figure II-22, était déployée très proche du plancher océanique (près du sédiment) à 106 mètres de profondeur.

Les deux capteurs ont été étalonnés sur l'Île de Pâques, juste avant déploiement à l'aide d'une solution mère standard de SiO_2 à $16693 \pm 83 \mu\text{mol L}^{-1}$ diluée dans de l'eau de mer artificielle ($S \approx 35$, $\text{pH} \approx 8$). Les équations des droites d'étalonnage obtenues sont respectivement : $I_{1(E_p=0,32V/réf)} = 0,0133 [\text{Si}] - 0,1403$ ($R^2=0,9979$) and $I_{2(E_p=0,32V/réf)} = 0,0094 [\text{Si}] - 0,0696$ ($R^2=0,9953$).

Entre le 6 et le 14 mai 2019, les deux capteurs ont enregistré un total de 440 données (voltammogrammes cycliques post-traités au laboratoire) à une fréquence de un point toutes les 45 minutes, avec une différence de 6 minutes entre l'échantillonnage des 2 capteurs (résultats non publiés à ce jour).

* zones éclairées des lacs, mers et océans où se produit la photosynthèse



Figure II - 22 : Cage en acier inoxydable instrumentée de 2 capteurs Silicate et leur pack de batterie

Durant la période de déploiement, trois échantillons d'eau de mer ont été prélevés dans la même zone et profondeur d'immersion des capteurs puis analysés par colorimétrie à l'Université Catolica del Norte, à Coquimbo (Chili) par nos collègues chiliens avec qui j'ai collaboré pour ce déploiement. Les concentrations en silicate obtenues pour ces échantillons sont représentées par des triangles bleus sur la Figure II-23, alors que la série temporelle des silicates obtenue avec les capteurs est présentée en noir et la température de l'eau à 106 mètres de fond en rouge sur la Figure II-23. La concentration en silicate est tracée en fonction du temps moyen d'échantillonnage, celui-ci durant 13 minutes (heure locale : UTC-8).

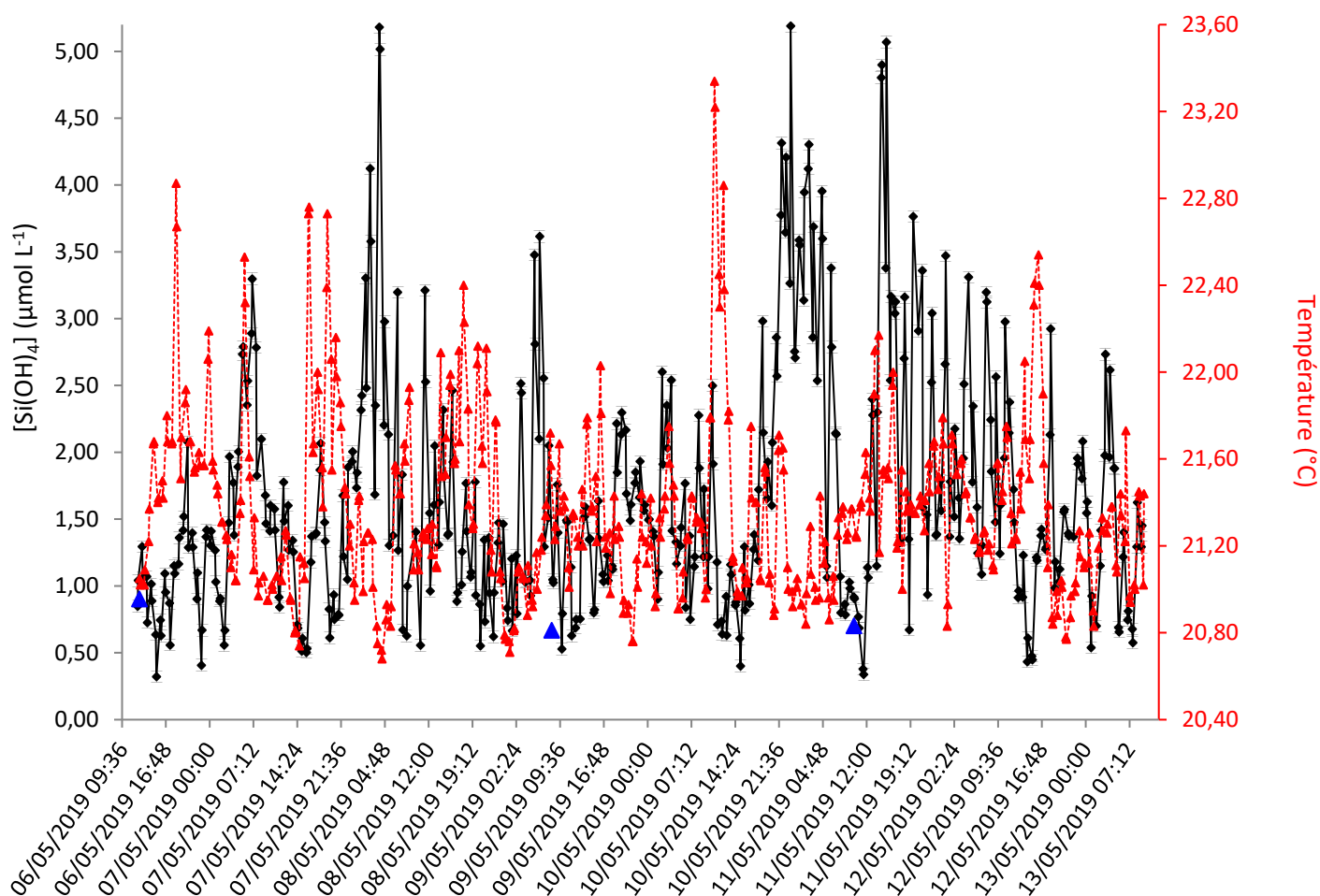


Figure II - 23 : Evolutions temporelles (heure locale UTC-8) de la concentration en silicate (♦) et de la température de l'eau à 106 m de profondeur (▲) enregistrées par 2 capteurs électrochimiques à Hango Piko (Ile de Pâques) – (▲) : concentrations des échantillons d'eau prélevés et post-analysés par détection colorimétrique au laboratoire

La concentration en silicate varie de 0,24 à 5,18 $\mu mol L^{-1}$ (Figure II-23). Une excellente corrélation a été obtenue entre les données enregistrées par les capteurs et les mesures colorimétriques de référence et également entre les 2 capteurs eux-mêmes (en considérant les 6 minutes d'écart entre leur échantillonnage).

La Figure II-24 montre des exemples de la concentration en silicate enregistrée par les 2 capteurs séparément les 8, 9 et 11 mai 2019. Les variations de concentration et particulièrement les épisodes extrêmes (concentrations maximales en silicate) sont identiques pour les 2 capteurs, illustrant la fiabilité et l'excellente reproductibilité des résultats.

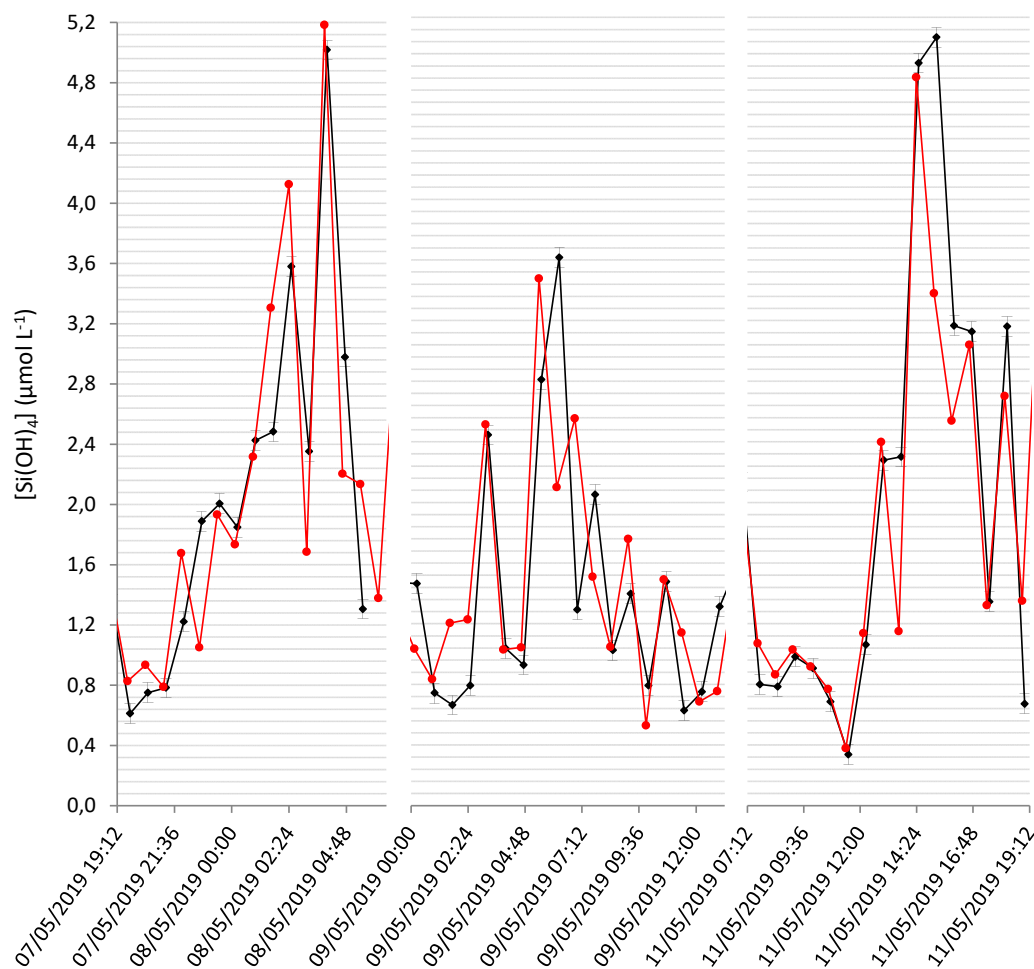


Figure II - 24 : Comparaison des concentrations en silicate obtenues avec les 2 capteurs (noir : capteur Si_n°1 et rouge : capteur Si_n°2)

IV – Conclusions

Depuis mon arrivée au LEGOS en 2011 (TRL2/3), soit après 10 années de développement instrumental nous avons abouti à la conception d'un capteur électrochimique autonome pour la mesure *in situ* de la concentration en silicate dans l'eau de mer d'un niveau de maturité technologique de TRL8. Les figures de mérite et les déploiements en milieux réels ont montré la robustesse des données et du procédé de détermination de la concentration en silicate.

Depuis le principe de mesure électrochimique avec modification *in situ* de l'échantillon, mis au point dans une cellule électrochimique compartimentée de plusieurs millilitres, un temps de travail considérable a été nécessaire pour développer un capteur *in situ*, immergeable : comprenant l'étude et la conception des matériaux (résistants dans le temps et dans l'environnement sans relarguer des interférents), le développement et la validation de l'électronique, l'intégration d'un système de prélèvement de l'échantillon (pompe) qui a nécessité d'adapter la mécanique en conséquence et travailler sur le mécanisme de formation du complexe silicomolybdique permettant sa détection sans dilution du signal et enfin la validation du capteur en milieux simulés et réels. Ce lourd et long travail a été conduit dans le cadre de 5 projets (1 projet RTRA-STAE, 4 projets européens dont un financé par l'ANR) durant lesquels j'ai encadré 5 post-doctorants, 2 stagiaires IUT Mesures Physiques et gérer un budget total de 1 170 000 € (jusqu'en 2024).

Avant d'envisager la commercialisation du capteur par nke Instrumentation, partenaire industriel depuis le projet SenseOCEAN en 2013, des améliorations sont actuellement à l'étude.

En effet, le principal défaut du capteur silicate est son temps d'échantillonnage trop long (13 minutes) limitant son utilisation sur des véhicules autonomes sous-marins. Son poids et sa consommation énergétique sont par contre compatibles pour son implémentation sur un flotteur profileur de type ARGO. Un test a d'ailleurs été réalisé au large de Villefranche-sur-Mer en Mer Méditerranée en 2017 (Figure II-25) [44].

Les profileurs ARGO dérivent avec les courants marins lorsqu'ils sont à leur profondeur dite de parking (prédéfini par l'utilisateur). Des capteurs physiques (température, pression, conductivité) et éventuellement biogéochimiques (nitrate) implémentés sur le profileur font l'acquisition de leurs données le long de la colonne d'eau lorsque le profileur remonte en surface, puis celui-ci transmet les données recueillies par induction satellite avant de replonger à sa profondeur de parking. Les capteurs sont alimentés par le véhicule (pas de batterie externe) et communiquent avec celui-ci (transmission des données) [67].



Figure II - 25 : Flotteur profileur PROVOR instrumenté du capteur Silicate

Dans la configuration actuelle du capteur silicate, le temps de réponse du capteur et particulièrement le temps d'échantillonnage sont trop lents devant la vitesse de remontée du profileur, aussi les silicates sont échantillonnés et mesurés lorsque le profileur est stationnaire, à sa profondeur de parking. Un effort reste à faire sur ce temps de réponse.

Fort de l'expérience acquise en développement instrumental au LEGOS et également du côté de nke Instrumentation, une nouvelle version du capteur à une cellule unique est actuellement en cours de caractérisation. Grace à cette cellule unique, où toutes les électrodes nécessaires à la production des réactifs et à la détection du complexe silicomolybdique sont intégrées dans le même ensemble, le circuit nécessite uniquement d'être rincé et rempli avec le nouvel échantillon d'eau de mer. En s'affranchissant de devoir transférer le complexe silicomolybdique vers une cellule de détection, de nouvelles solutions de prélèvement d'eau de mer sont désormais envisageables. Un circulateur a donc été intégré, permettant d'utiliser des débits bien plus élevés et d'abaisser ainsi l'échantillonnage à seulement quelques secondes. Cette nouvelle configuration de capteur permet la détection des silicates toutes les 13 minutes (contre 45 min précédemment) et sera implémentée sur un profileur ARGO et testée en Mer Méditerranée dans le cadre du projet NAUTILUS.

Une autre amélioration du capteur silicate avant d'envisager son utilisation à plus large échelle dans la communauté des océanographes concerne le post-traitement des données. A l'heure actuelle, la mesure manuelle (logiciel NOVA) de faibles intensités de pics sur les voltammogrammes cycliques enregistrés nécessite les compétences d'un électrochimiste averti. Une solution à l'étude est d'utiliser la détection des silicates par voltammétrie à vague carrée permettant de potentiellement développer un algorithme de post-traitement automatique, intégré, du signal fournissant directement les données en concentration en silicate, les pics en voltammétrie à vague carrée étant gaussiens. L'électronique embarquée de la dernière génération du capteur a été améliorée en conséquence et intègre la détection du complexe par voltammétrie à vague carrée.

Références bibliographiques

- [1] A. Aminot, R. Kérouel, Dosage automatique des nutriments dans les eaux marines, Ifremer, Plouzané, 2007.
- [2] R. Vuillemin, D. Thouron, G. Gallou, L. Pares, B. Briant, A. Dubreule, V. Garçon ; ANAIS : Autonomous nutrient analyzer *in-situ* : A first step to profiler chemical analyzers for long-term monitoring; meets the quality requirements defined in JGOFS and WOCE programs ; Sea Technology 40 (1999) 75-78.
- [3] D. Thouron, R. Vuillemin, X. Philippon, A. Lourenço, C. Provost, A. Cruzado, V. Garçon ; An autonomous nutrient analyser for oceanic long-term *in situ* biogeochemical monitoring ; Analytical Chemistry 75 (2003) 2601-2609.
- [4] M.D. Patey, M.J.A. Rijkenberg, P.J. Statham, M.C. Stinchcombe, E.P. Achterberg, M. Mowlem ; Determination of nitrate and phosphate in seawater at nanomolar concentrations ; TRAC Trends in Analytical Chemistry 27 (2008) 169–182.
- [5] J. Ma, L. Adornato, R.H. Byrne, D. Yuan ; Determination of nanomolar levels of nutrients in seawater ; TRAC Trends in Analytical Chemistry 60 (2014) 1-15.
- [6] M.M. Grand, G.S. Clinton-Bailey, A.D. Beaton, A.M. Schaap, T.H. Johengen, M.N. Tamburri, D.P. Connelly, M.C. Mowlem, E.P. Achterberg ; A Lab-on Chip phosphate analyzer for long-term *in situ* monitoring at fixed observatories: optimization and performance evaluation in estuarine and oligophic coastal waters ; Frontiers in Marine Science 4 (2017) 255.
- [7] F.-E. Legiret, V.J. Sieben, E.M.S. Woodward, S.K. Abi Kaed Bey, M.C. Mowlem, D.P. Connelly, E.P. Achterberg ; A high performance microfluidic analyser for phosphate measurements in marine waters using the vanadomolybdate method ; Talanta 116 (2013) 382-387.
- [8] X. Cao, S.W. Zhang, D.Z. Chu, N. Wu, H.K. Ma, Y. Liu ; A design of spectrophotometric microfluidic chip sensor for analyzing silicate in seawater ; IOP Conf. Series : Earth and Environmental science 82 (2017) 012080.
- [9] A.V. Medvetkii, T.I. Tikhomirova, A.D. Smolenkov, E.N. Shapovalova, O.A. Shpigun ; Sorption-chromatographic determination of phosphate and silicate ions in waters as molybdic heteropoly acids ; Journal of Analytical Chemistry 62 (2007) 213–218.
- [10] K. Yoshimura, H. Waki ; Ion-exchanger phase absorptiometry for trace analysis ; Talanta 32 (1985) 345-352.
- [11] N. G. Carpenter, A. W. E. Hodgson, D. Pletcher ; Microelectrode procedures for the determination of silicate and phosphate in waters – fundamental studies ; Electroanalysis 9 (1997) 1311- 317.
- [12] M. Lacombe, V. Garçon, M. Comtat, L. Oriol, J. Sudre, D. Thouron, N. Le Bris, C. Provost ; Silicate determination in sea water: Toward a reagentless electrochemical method ; Marine Chemistry 106 (2007) 489-497.
- [13] M. Lacombe, V. Garçon, D. Thouron, N. Le Bris, M. Comtat ; Silicate electrochemical measurements in seawater: Chemical and analytical aspects towards a reagentless sensor ; Talanta 77 (2008) 744-750.

- [14] D. Aguilar, C. Barus, W. Giraud, E. Calas, E. Vanhove, A. Laborde, J. Launay, P. Temple-Boyer, N. Striebig, M. Armengaud, V. Garçon ; Silicon-based electrochemical microdevices for silicate detection in seawater ; *Sensors and Actuators B: Chemical* 211 (2015) 116-124.
- [15] J. Joíca, V. Leon-Fernandez, D. Thouron, A. Paulmier, M. Graco, V. Garçon ; Phosphate determination in sea water: Toward a reagentless electrochemical method ; *Talanta* 87 (2011) 161-167.
- [16] C. Barus, I. Romanytsia, N. Striebig, V. Garçon ; Toward an *in situ* phosphate sensor in seawater using Square Wave Voltammetry ; *Talanta* 160 (2016) 417-424.
- [17] P. A. Nikolaychuk et A. G. Tyurin ; The Revised Pourbaix Diagram for Molybdenum ; *Butlerov Communications, Бутлеровские сообщения*, 24 (2011) 2, 101 – 105.
- [18] V.S. Saji et C.-W. Lee ; Molybdenum, Molybdenum Oxides, and their Electrochemistry ; *ChemSusChem* 5 (2012) 1146-1161.
- [19] K. Wang, Y.-S. Li, P. He ; *In situ* identification of surface species on molybdenum in different media ; *Electrochimica Acta* 43 (1998) 2459-2467.
- [20] L. De Rosa, C.R. Tomachuk, J. Springer, D.B. Mitton, S. Saiello, F. Bellucci ; The wet corrosion of molybdenum thin film – Part I : Behavior at 25°C ; *Materials and Corrosion* 55 (2004) 602-609.
- [21] M.N. Hull, On the anodic dissolution of molybdenum in acidic and alkaline electrolytes, *Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry* 38 (1972) 143-157.
- [22] W.A. Badawy et F.M. Al-Kharafi ; Corrosion and passivation behaviors of molybdenum in aqueous solutions of different pH ; *Electrochim. Acta* 44 (1998) 693-702.
- [23] M. Bojinov, I. Betova, R. Raicheff ; Transpassivity of molybdenum in H₂SO₄ solution ; *Journal of Electroanalytical Chemistry* 382 (1995) 123-131.
- [24] M. Ürgen, U. Stolz, R. Kirchheim ; ESCA Measurements of films on molybdenum formed in the passive and transpassive region ; *Corrosion Science* 30 (1990) 4/5, 377-391.
- [25] M. Itagaki, T. Suzuki, K. Watanabe ; Channel flow double electrode study on anodic dissolution of molybdenum in sulfuric acid solution ; *Electrochimica Acta* 42 (1997) 7, 1081-1086.
- [26] Y.C. Lu, C.R. Clayton ; An XPS study of the passive and transpassive behaviour of molybdenum in deaerated 0.1M HCl ; *Corrosion Science* 29 (1989) 8, 927-937.
- [27] M. Bojinov, I. Betova, R. Raicheff ; A model for the transpassivity of molybdenum in acidic sulphate solutions based on ac Impedance measurements ; *Electrochimica Acta* 41 (1996) 7/8, 1173-1179.
- [28] H. Hixson, P.M.A. Sherwood ; Electrochemical Oxidation of Molybdenum Metal in 0.5 M H₂SO₄ Studied by Core and Valence Band X-ray Photoelectron Spectroscopy and Interpreted by Band Structure Calculations ; *Chemistry of Materials* 8 (1996) 2643-2653.
- [29] E.A. Nagul, I.D. McKelvie, P. Worsfold, S.D. Kolev ; The molybdenum blue reaction for the determination of orthophosphate revisited: Opening the black box ; *Analytica Chimica Acta* 890 (2015) 60-82.

- [30] J.J. Cruywagen ; Protonation, oligomerization, and condensation reactions of vanadate (V), molybdate(VI), and tungstate(VI) ; *Advances in Inorganic Chemistry* 49 (1999) 127-182.
- [31] J.J. Cruywagen, A.G. Draaijer, J.B.B. Heyns, E.A. Rohwer ; Molybdenum(VI) equilibria in different ionic media. Formation constants and thermodynamic quantities ; *Inorganic Chimica Acta* 331 (2002) 322-329.
- [32] C.V. Krishnan, M. Garnett, B. Hsiao, B. Chu ; Electrochemical Measurements of Isopolyoxomolybdates: 1.pH Dependent Behavior of Sodium Molybdate ; *International Journal of Electrochemical Science* 2 (2007) 29-51.
- [33] J. Jońca, C. Barus, W. Giraud, D. Thouron, V. Garçon, M. Comtat ; Electrochemical behaviour of isopoly- and heteropolyoxomolybdates formed during anodic oxidation of molybdenum in seawater ; *International Journal of Electrochemical Science* 7 (2012) 7325-7348.
- [34] J.-Z. Zhang, C.J. Fischer, P.B. Ortner ; Optimization of performance and minimization of silicate interference in continuous flow phosphate analysis ; *Talanta* 49 (1999) 293-304.
- [35] J. Jońca, W. Giraud, C. Barus, M. Comtat, N. Striebig, D. Thouron, V. Garçon ; Reagentless and silicate interference free electrochemical phosphate determination in seawater ; *Electrochimica Acta* 88 (2013) 165-169.
- [36] Y. Bai, J. Tong, J. Wang, C. Bian, S. Xia ; Electrochemical microsensor based on gold nanoparticles modified electrode for total phosphorus determinations in water ; *IET Nanobiotechnology*. 8 (2014) 31-36;
- [37] A.V. Kolliopoulos, D.K. Kampouris, C.E. Banks ; Rapid and Portable Electrochemical Quantification of Phosphorus ; *Analytical Chemistry* 87 (2015) 4269-4274.
- [38] A.G. Fogg, N.K. Bsebsu, B.J. Birch ; Differential-pulse anodic voltammetric determination of phosphate, silicate, arsenate and germinate as β -heteropolymolybdates at a stationary glassy-carbon electrode ; *Talanta* 28 (1981) 473-476.
- [39] C.C. Kircher and S.R. Crouch ; Kinetics of the formation and decomposition of 12-molybdophosphate ; *Analytical Chemistry* 55 (1983) 242-248.
- [40] K. Maeda, S. Himeno, T. Osakai, A. Saito, T. Hori ; A voltammetric study of Keggin-type heteropolymolybdate anions ; *Journal of Electroanalytical Chemistry* 364 (1994) 149-154.
- [41] C. Rong and F.C. Anson ; Spontaneous adsorption of heteropolytungstates and heteropolymolybdates on the surfaces of solid electrodes and the electrocatalytic activity of the adsorbed anions ; *Rev. Inorganica Chimica Acta Reviews* 242 (1996) 11-16.
- [42] B. Wang and S. Dong ; Electrochemical study of isopoly- and heteropoly-oxometallates film modified microelectrodes-VI. Preparation and redox properties of 12-molybdophosphoric acid and 12-molybdosilicic acid modified carbon fiber microelectrodes ; *Electrochimica Acta* 41 (1996) 895-902.
- [43] S. Choi and J. Kim ; Adsorption properties of Keggin-type polyoxometalates on carbon based electrode surface and their electrocatalytic activities ; *Bulletin of the Korean Chemical Society* 30 (2009) 810-816.

- [44] C. Barus, D. Chen Legrand, N. Striebig, B. Jugeau, A. David, M. Valladares, P. Munoz Parra, M. Ramos, B. Dewitte, V. Garçon ; First deployment and validation of *in situ* silicate electrochemical sensor in seawater ; *Frontiers in Marine Science* 5 (2018) 60.
- [45] D.R. Schink, N.L. Guinasso, K.A. Fanning ; Processes Affecting the Concentration of Silica at the Sediment-Water Interface of the Atlantic Ocean ; *Journal of Geophysical Research* 80 (1975) 3013-3031.
- [46] P. Tréguer, D.M. Nelson, A.J. Van Bennekom, D.J. DeMaster, A. Leynaert, B. Quéguiner ; The Silica Balance in the World Ocean: A Reestimate ; *Science* 268 (1995) 375-379.
- [47] P.J. Tréguer, C.L. De La Rocha ; The World Ocean Silica Cycle ; *Annual Review of Marine Science* 5 (2013) 477-501.
- [48] J.C. Quintana, L. Idrissi, G. Palleschi, P. Albertano, A. Amine, M. El Rhazi, D. Moscone ; Investigation of amperometric detection of phosphate Application in seawater and cyanobacterial biofilm samples ; *Talanta* 63 (2004) 567-574.
- [49] A.G. Fogg, N.K. Bsebsu ; Differential-pulse Voltammetric Determination of Phosphate as Molybdovanadophosphate at a Glassy Carbon Electrode and Assessment of Eluents for the Flow Injection Voltammetric Determination of Phosphate, Silicate, Arsenate and Germanate ; *Analyst* 106 (1981) 1288-1295.
- [50] R.A. Chalmers, A.G. Sinclair ; Analytical Applications of β -Heteropoly acids – Part I. Determination of Arsenic, Germanium and Silicon ; *Analytica Chimica Acta* 33 (1965) 384-390.
- [51] S. Somnam, S. Motomizu, K. Grudpan, J. Jakmunee ; Hydrodynamic Sequential Injection with Stopped-flow Procedure for Consecutive Determination of Phosphate and Silicate in Wastewater ; *Chiang Mai Journal of Science* 41 (2014) 606-617.
- [52] K. Unoura, N. Tanaka ; Comparative Study of the Electrode Reactions of 12-Molybdosilicate and 12-Molybdophosphate ; *Inorganic Chemistry* 22 (1983) 2963-2964.
- [53] K. Eguchi, Y. Toyozawa, N. Yamazoe, T. Seiyama ; An Infrared Study of the Reduction Processes of Dodecamolybdophosphates ; *Journal of Catalysis* 83 (1983) 32-41.
- [54] M. Sadakane, E. Steckhan ; Electrochemical Properties of Polyoxometalates as Electrocatalysts ; *Chemical Reviews* 98 (1998) 219-237.
- [55] H. Ota, H. Mitsuda, M. Kimura, T. Kitao ; Reference Materials for Nutrients in Seawater: Their Development and Present Homogeneity and Stability in M. Aoyama, A.G. Dickson, D.J. Hydes, A. Murata, J.R. Oh, P. Roose ; E.M.S. Woodward (Eds.), *Comparability of nutrients in the world's ocean*, Tsukuba, Japan: Mother Tank, 2010, pp. 11-30.
- [56] M. Aoyama, H. Ota, M. Kimura, T. Kitao, H. Mitsuda, A. Murata, K. Sato ; Current Status of Homogeneity and Stability of the Reference Materials for Nutrients in Seawater ; *Analytical Sciences* 28 (2012) 1-6.
- [57] R.B. Dean, W.J. Dixon ; Simplified Statistics for Small Numbers of Observations ; *Analytical Chemistry* 23 (1951) 636-638.

- [58] D. Chen Legrand, S. Mas, B. Jugeau, A. David, C. Barus ; Silicate Marine Electrochemical Sensor ; *Sensors and Actuators B* 335 (2021) 129705.
- [59] Y. Collos, B. Bec, C. Jauzein, E. Abadie, T. Laugier, J. Lautier, A. Pastoureaud, P. Souchu, A. Vaquer ; Oligotrophication and emergence of picocyanobacteria and a toxic dinoflagellate in Thau Lagoon, southern France ; *Journal of Sea Research* 61 (2009) 68-75.
- [60] N. Laanaia, A. Vaquer, A. Fiandrino, B. Genovesi, A. Pastoureaud, P. Cecchi, Y. Collos ; Wind and temperature controls on Alexandrium blooms (2000-2007) in Thau lagoon (Western Mediterranean) ; *Harmful Algae* 28 (2013) 31-36.
- [61] E. Fouilland, A. Trottet, C. Bancon-Montigny, M. Bouvy, E. Le Floc'h, J.-L. Gonzalez, E. Hatey, S. Mas, B. Mostajir, J. Nougier, D. Pecqueur, E. Rochelle-Newall, C. Rodier, C. Roques, C. Salles, M.-G. Tournoud, F. Vidussi ; Impact of a river flood on microbial carbon and nitrogen production in a Mediterranean Lagoon (Thau Lagoon, France), *Estuarine Coastal Shelf Science* 113 (2012) 192-204.
- [62] B. Millet, Hydrodynamic motions in the bassin de Thau ; Ecological corroboration of a numerical model of circulation ; *Oceanologica Acta* 12 (1989) 37-46.
- [63] P. Souchu, A. Gasc, Y. Collos, A. Vaquer, H. Tournier, B. Bibent, J.-M. Deslous-Paoli ; Biogeochemical aspects of bottom anoxia in a Mediterranean lagoon (Thau, France) ; *Marine Ecology Progress Series* 164 (1998) 135-146.
- [64] R.J. Gowen, Y. Collos, P. Tett, C. Scherer, B. Bec, E. Abadie, M. Allen, T. O'Brien ; Response of diatom and dinoflagellate lifeforms to reduced phosphorus loading: A case study in the Thau lagoon, France ; *Estuarine Coastal Shelf Science* 162 (2015) 45-52.
- [65] P. Tréguer, P. Le Corre, Handbook of Seawater Nutrient Analyses, second ed., In: Autoanalyser II Technicon User Guide, Université de Bretagne Occidentale, Laboratoire de Chimie marine, Brest, France, 1975, pp. 1-110.
- [66] G. Thouzeau, J. Grall, J. Clavier, L. Chauvaud, F. Jean, A. Leynaert, S. ni Longphuir, E. Amice, D. Amouroux ; Spatial and temporal variability of benthic biogeochemical fluxes associated with macrophytic and macrofaunal distributions in the Thau lagoon (France) ; *Estuarine Coastal Shelf Science* 72 (2007) 432-446.
- [67] ARGO program: <https://argo.ucsd.edu/>



Silicon-based electrochemical microdevices for silicate detection in seawater



D. Aguilar^{a,1}, C. Barus^{a,*,1}, W. Giraud^a, E. Calas^a, E. Vanhove^{b,c}, A. Laborde^{b,c}, J. Launay^{b,c}, P. Temple-Boyer^{b,c}, N. Striebig^d, M. Armengaud^d, V. Garçon^a

^a Laboratoire d'Etudes en Géophysique et Océanographie Spatiales, UMR 5566, 18 Avenue Edouard Belin 31401 TOULOUSE Cedex 9, France

^b CNRS, LAAS, 7 Avenue du Colonel Roche, F-31400 TOULOUSE, France

^c University of Toulouse, UPS, LAAS, F-31400 TOULOUSE, France

^d Observatoire Midi-Pyrénées, 14 Avenue Edouard Belin 31401 TOULOUSE Cedex 9, France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 29 October 2014

Received in revised form 7 January 2015

Accepted 15 January 2015

Available online 24 January 2015

Keywords:

Silicon microdevices

Electrochemistry

In situ silicate detection in seawater

ABSTRACT

This paper describes the electrochemical characterisation of gold and platinum microdevices mass fabricated using silicon technology. Specific attention was paid to allow *in situ* electrochemical detection of silicate in seawater. Thus, using a silicon nitride (Si_3N_4) inorganic passivation layer patterned using Inductively Coupled Plasma Chemical Vapor Deposition (ICP-CVD), coupled with a non-aggressive lift-off based process, different electrodes were isolated electrically: one gold or platinum working electrode named "macroelectrode" (2 mm of diameter), four gold or platinum working ultramicroelectrodes (UME) (15 μm of diameter), one platinum counter electrode and one silver electrode which can be used as a reference electrode after its chlorination. Their small size and mass fabrication make them very promising for oceanographic applications. As some components of microdevices release silicate and contaminate the solution, after being immersed in seawater, these microdevices were inserted in a specific cell that only puts the electrodes in contact with the seawater solution. Gold has been tested as a possible material for working electrodes but its lack of adherence to the passivation layer in seawater solutions led to non-accurate measurements. On the contrary, passivation layer on platinum electrodes resists to the seawater corrosive medium. The analytical performances of the platinum microdevices has been tested through different silicate calibrations and shows an outstanding accuracy and reproducibility when measurements are performed, especially with the macroelectrodes which showed only 2.8% signal variation after four months of use and a limit of quantification of $0.50 \mu\text{mol L}^{-1}$ suitable for oceanographic applications.

© 2015 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Continuous monitoring and real time transmission of key parameters from marine environments, such as macro-nutrients (silicate, phosphate, nitrate) help to better understand biogeochemical cycles and the role of the ocean in climate evolution. As of September 2014, 3579 ARGO floats equipped with physical CTD (conductivity, temperature, depth) sensors were profiling in the global ocean. Some of these floats were equipped with biogeochemical sensors (Oxygen (249), Bio-optics (77), Nitrate (47) and pH (14)) but none of them with a silicate one. An important challenge is to

cover the ocean with as many biogeochemical profiling floats as physical floats. To reach this goal, *in situ* and autonomous nutrient sensors are needed to sample the largest range of spatio-temporal scales. In order to implement nutrients sensors on buoys, moorings, autonomous under vehicles, floats. . . , these sensors have to be robust and resistive to corrosive conditions, miniaturized, portable, may consume low energy, and be low cost. Electrochemistry has been chosen here to detect silicate because electrochemical methods may fulfill some of these requirements.

As a matter of fact electrochemistry is routinely used in analytical chemistry and provides a large scope of applications, in increasingly complex samples [1–4]. In marine environments, Reimers [5], Moore et al. [6] and Denuault [7] reviewed the electrochemical techniques and microelectrodes used into sensors for oceanic research. Mainly, there are four electrochemical methods used in oceanography using *in situ* commercial sensors:

* Corresponding author. Tel.: +33 5 61 33 29 13; fax: +33 5 61 25 32 05.

E-mail address: carole.barus@legos.obs-mip.fr (C. Barus).

¹ 2 first co-authors.

(i) impedimetry to measure conductivity and determine salinity [8], (ii) potentiometry to measure pH [9–13] and $p\text{CO}_2$ [14,15], (iii) amperometry to measure dissolved oxygen using Clark sensors [16,17] or STOX sensors [18,19] and (iv) voltammetry for trace metals and speciation monitoring [20,21]. In the last recent years, combination of modern electrochemistry with progress in microelectronics and microfabrication has allowed to develop new microarrays, flow-cells and microsensors for real-time monitoring of trace metals (Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} ...) in seawater using screen-printed electrodes [22,23] or silicon-based microelectrodes [24–27]. Cathodic [28] and anodic [29] stripping voltammetry methods are widely used for metals speciation, more often combined with square wave voltammetry (Square Wave Anodic Stripping Voltammetry SWASV) [30–32]. These methods are using either gel integrated Ir-based microelectrodes [21,33,34] or gold amalgam electrodes [20,35–37] and allow to detect simultaneously several redox species in seawater within a single potential scan (O_2 , Mn^{2+} , Fe^{2+} , I^- , FeS , S^{2-} , H_2S ...).

It is now possible to detect silicate with electrochemical methods without any addition of liquid reagents even if silicate is a non-electroactive species and so cannot be detected directly. Indeed, Lacombe et al. developed a method to produce *in situ* the reagents and the pH conditions needed to form the Keggin anion $\text{Si}(\text{Mo}_{12}\text{O}_{40})^{4-}$ detectable by cyclic voltammetry on gold or platinum electrodes [38]. This method requires a simple oxidation of a molybdenum electrode in order to form molybdate and protons. To achieve the needed acidic pH and form the silicomolybdic complex, a non-proton exchange membrane is added in order to isolate the counter electrode and avoid the reduction of the H^+ formed at the anode [39]. We are currently working on the development of miniaturized and autonomous silicate sensors using this method and in order to reduce the associated cost, the use of silicon-based technologies for the mass fabrication of electrodes and the realization of integrated microdevices is proposed.

Development of microfabricated electrochemical devices (microelectrodes, microelectrode arrays and ultramicroelectrodes) has considerably increased in the last two decades [40]. The advantage of this technique is to create individual microdevices with identical physical and chemical performances, well defined and reproducible geometries of several electrodes with a mass fabrication approach. Several metals (such as gold, platinum, silver...) can be deposited on silicon-based microdevices. The final capping insulation layer (passivation layer), which isolates the circuit and defines the electrode surface area, is the critical step in the microfabrication process. Passivation layers can be either organic or inorganic.

Organic passivation layers such as polymers are generally deposited by spin coating processing and were used for medical applications [41,42]. However, organic passivation layers suffer from water adsorption and are not suitable for liquid media such as seawater. The time of failure in such environment is in the range of a few hours [43].

Inorganic passivation layers such as silicon oxide (SiO_2) or silicon nitride (Si_3N_4), deposited by Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition (PECVD), give excellent electrical barrier properties and resist much longer in fluids than polymers. Microdevices with these inorganic passivation layers were used to evaluate the quantity of herbicides in natural waters measuring the variations in consumption-production rates of species involved in metabolic activities of algae such as O_2 , H_2O_2 , and $\text{H}_3\text{O}^+/\text{OH}^-$ ions [44]. Tercier-Waeber et al. developed a multi physical-chemical profiler for *in situ* monitoring of Cu(II), Pb(II) and Cd(II) in estuaries and coastal seawaters [21].

However, environments such as seawater where the chloride concentration is really high cause important damages on passivation layers. Indeed Nolan and Kounaves revealed that both

chloride (Cl^-) concentration and acidity of the solution contribute to microdevice failure because of Cl^- infiltrations underneath the insulating layer [45].

Schmitt et al. compared different passivation layers in NaCl (1 mol L^{-1}) solution at three different pH (i.e. pH = 2, 7 and 10) and concluded that the best results in term of life time resistance were obtained with $\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$ duplex layers and $\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4/\text{SiO}_2$ triplex layers [43].

Vanhove et al. used this type of inorganic passivation layers and developed a new deposition process at low temperature which reduced surface damages and controlled residual stress using Inductively Coupled Plasma Chemical Vapor Deposition (ICP-CVD) coupled with a non-aggressive lift-off based process with T shaped photoresist profiles [46]. They immersed three microdevices with twelve gold ultra-microelectrodes (UME) during approximately two months in seawater and did electrochemical cleaning in sulfuric acid (H_2SO_4 : 0.5 mol L^{-1}) by cyclic voltammetry, then chronoamperometry measurements at 0.6 V in 5 mmol L^{-1} solutions of potassium hexacyanoferrate (II) trihydrate in order to measure the electroactive surface areas of UME. They showed stable and reproducible results during 50 days.

In this work, we will present the results obtained with these new silicon-based microdevices developed by LAAS laboratory with Si_3N_4 passivation layer for the electrochemical detection of silicates in seawater in the concentration range observed in the open ocean. We will describe the structure of the new microdevices that integrate a macroelectrode (ME), four ultramicroelectrodes (UME) and a counter electrode. The materials used for the electrodes will be discussed as well as how these devices have been adapted for the first time for the silicate detection in seawater.

2. Material and methods

2.1. Microdevices fabrication

The electrochemical microdevices were fabricated according to the ElecCell (Electrochemical microCell) silicon-based technological platform previously developed in LAAS [42]. Starting from an oxidized silicon wafer (oxide thickness: $\sim 1\text{ }\mu\text{m}$) in order to ensure electrical insulation between the different metallic layers, the different thin metallic layers were deposited by evaporation in conventional Physical Vapour Deposition (PVD) equipment, and patterned using a bilayer lift-off process in order to improve fabrication reproducibility. Different PVD processes were performed in a row: firstly, a 200 nm platinum layer was deposited on a 20 nm titanium underlayer in order to ensure platinum adhesion on silicon oxide. Then other metallic layers could be deposited such as 400 nm gold (for working electrodes) and 400 nm silver that can be used as a reference electrode after its chlorination. Finally, an inorganic Si_3N_4 passivation layer (thickness: $105 \pm 5\text{ nm}$) was deposited patterned using photolithography techniques [46]. This wafer-level passivation process was developed and optimized in order to fit with the long-term seawater analysis [46]. Through this final step, the different metallic layers were insulated electrically and their active surfaces were precisely defined. Finally, the different silicon chips were placed and glued by an epoxy insulating glue on a specifically coated printed circuit, wire bonded and packaged at the system level in order to be fully compatible with liquid phase analysis.

The dimensions of such a microdevice are $80\text{ mm} \times 15\text{ mm} \times 2\text{ mm}$ (Fig. 1A) and the photo shows one platinum counter electrode ($3\text{ mm} \times 1\text{ mm}$), one silver electrode ($3\text{ mm} \times 1\text{ mm}$) to be used further as reference electrode, one working macroelectrode (2 mm of diameter) and four working ultramicroelectrodes ($15\text{ }\mu\text{m}$ of diameter) (Fig. 1B and C). The

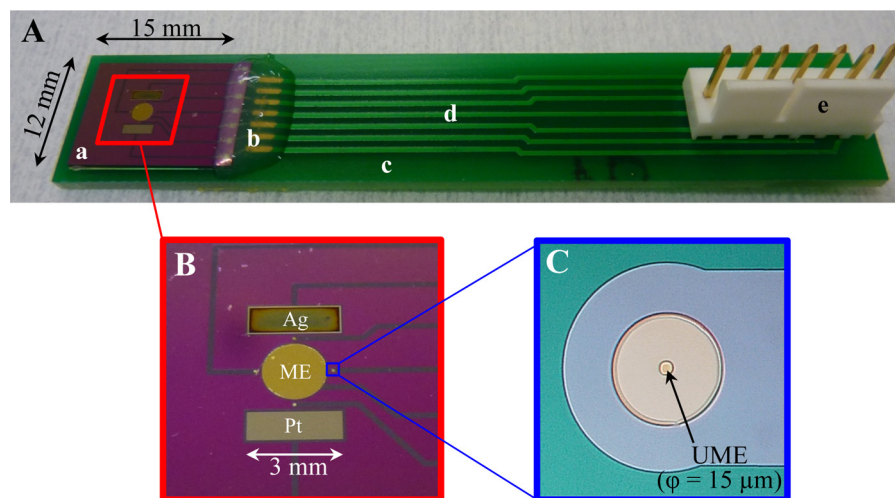


Fig. 1. (A) Photo of microdevice with (a) oxidized silicon wafer covered with the electrodes and Si_3N_4 passivation layer, (b) silicone resin covering the electric micro-connections, (c) PolyChloroBiphenyl (PBC) plate, (d) printed circuit board and (e) connection pin. (B) Zoom on the electrodes with the silver electrode (Ag), the platinum counter electrode (Pt), the macroelectrode (ME, $\phi = 2$ mm) and 4 ultramicroelectrodes (small dots around the ME) and (C) Zoom on one ultramicroelectrode (UME, $\phi = 15$ μm).

macroelectrode and ultramicroelectrodes are made of gold or platinum according to the fabrication process.

2.2. Apparatus and electrodes

Cyclic voltammetry measurements were carried out at room temperature with a potentiostat PGSTAT 128 N (Metrohm) controlled by NOVA software. A multiplexer module (MUX) (Metrohm) allowed to connect several electrodes in the same time and to perform electrochemical measurements with the different macro- and ultramicroelectrodes from a microdevice, sequentially. All potentials are given versus an Ag/AgCl/KCl (3 mol L^{-1}) (Metrohm) reference electrode.

The molybdenum slab was supplied by GoodFellow (purity, 99.9%). To realize some contamination tests of the different components and material used into microdevices, homemade gold ultramicroelectrodes (25 μm of diameter) were needed. They were prepared in the laboratory from gold wires purchased from GoodFellow and sealed with epoxy resin made with a mix of DGEBA¹ (10 g) + IPDA² (2.44 g) and polymerized at 80 °C during 3 days [47].

2.3. Reagents and solutions

All solutions were prepared in Milli-Q water (Millipore Milli-Q water system) and put into polypropylene containers because glass must not be used in order to avoid silicate contamination in solutions. Silicate solutions were prepared with sodium hexafluorosilicate (Na_2SiF_6 , from Merck) between 0.50 and 134 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Standard calibration and silicate samples were prepared in sodium chloride (NaCl) solutions supplied by Merck at 34.5 g L^{-1} (0.6 mol L^{-1}).

The electroactive surfaces of gold (especially for homemade electrodes) are activated using a 0.50 mol L^{-1} sulphuric acid solution (prepared from a 98% H_2SO_4 solution supplied by Merck).

2.4. General analytical procedure

The methodology for the electrochemical determination of silicates with the microdevices is adapted from the one described in

Lacombe et al. and consists of two steps [39]. First, the molybdenum metal electrode oxidation is performed in a 3 mL sample by applying a constant potential of 1.0 V until a 14 C electric charge was reached in order to form molybdates (MoO_4^{2-} up to a concentration of 6.5 mmol L^{-1}) and protons (H^+ , pH ≈ 1.5). The cut off of the electric charge (14 C) was determined experimentally as it is not possible to calculate it with the Faraday's law since the oxidation of molybdenum involves the formation of different Mo oxides as MoO_2 , MoO_3 ... [48]. After 6 min with stirring, the corresponding β -silicomolybdic complex ($\beta\text{-Si}(\text{Mo}_{12}\text{O}_{40})^{4-}$) is formed. This step is carried out in a homemade cell (Fig. 2) which is divided into two compartments separated by a Nafion[®] membrane (N117 DuPont[™] PFSA). In the first compartment, 3 mL of sample is placed together with a molybdenum electrode and the reference electrode (Ag/AgCl/KCl 3 mol L^{-1}). A platinum counter electrode is placed in the second compartment, on the other side of the non-proton exchange membrane, to limit the diffusion of H^+ produced, avoid their reduction and obtain the required acidic pH for the complexation of silicates with molybdates [49,50]. Then the silicomolybdic complex is detected by cyclic voltammetry (CV) using a gold or platinum working electrode immersed in the compartment of the cell (Fig. 2) which contains the Mo electrode. The cyclic voltammograms are performed between 0.20 and 0.60 V, using a scan rate 0.1 V s^{-1} for the macroelectrode and 0.01 V s^{-1} for the ultramicroelectrodes. The CV plots show two reduction peaks at 0.26 V and 0.38 V and

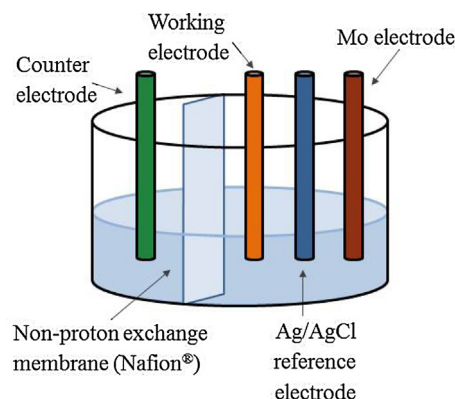


Fig. 2. Scheme of the homemade cell designed for the Mo oxidation and the formation of the silicomolybdic complex.

¹ DGEBA: DiGlycidyl Ether of Bisphenol A

² IPDA: Isophorone Diamine

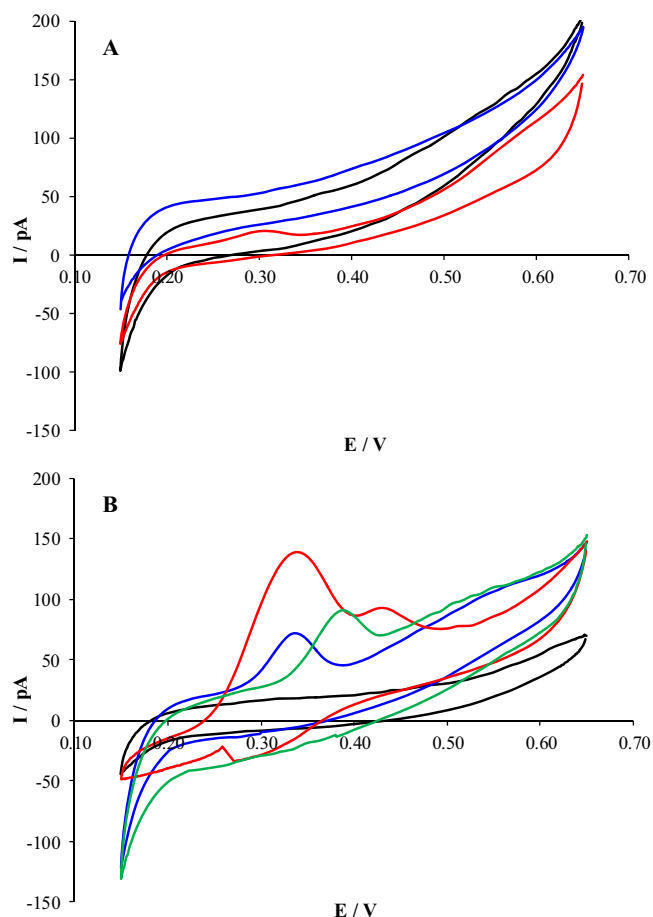


Fig. 3. Cyclic voltammograms recorded with a gold ultramicroelectrode with 10 mV s^{-1} (IPDA, $25 \mu\text{m}$ diameter) and an Ag/AgCl/KCl (3 mol L^{-1}) reference electrode in: (A) sodium chloride solution alone (black line), seawater where the silicon wafer was immersed (red line), seawater where a silicon wafer covered with Si_3N_4 was immersed (blue line); (B) sodium chloride solution alone (black line), seawater where silicon resin was immersed for 10 min (blue line), seawater where silicon resin was immersed for 12 h (red line), seawater where PCB was immersed (green line).

two oxidation peaks at 0.31 V and 0.41 V. In this work, the analytical signals have been either the intensity current in the reduction peak at 0.38 V (the most precise) or the oxidation intensity current at 0.41 V.

Finally, a cleaning procedure for the working electrode must be applied. This step has been previously performed with classical cleaning protocols using a H_2SO_4 solution; however, for *in situ* seawater measurements, this process is not suitable. A new procedure has been developed which consists in applying a potential of -0.2 V during 200 s in a seawater sample. This method has been successfully tested using classical gold or platinum macroelectrodes (2 mm of diameter) by applying it between different measurements of a sample containing a silicate concentration of $140 \mu\text{mol L}^{-1}$. The measured current in the detection cyclic voltammograms showed a variation of only 4.6% after 18 different measurements over 87 days.

3. Results and discussion

3.1. Contamination tests

The microdevices presented in this work were tested by measuring a $140 \mu\text{mol L}^{-1}$ silicate solution made in sodium chloride solution. After the Mo oxidation, the silicomolybdic complex

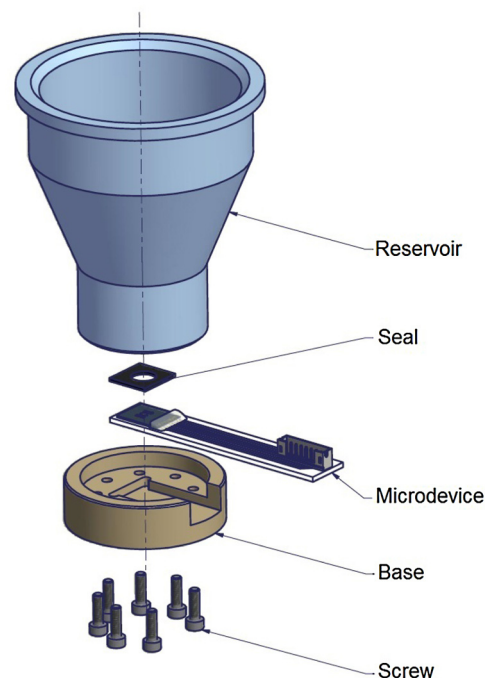


Fig. 4. Scheme of the cell adapted for the microdevices and the silicate detection measurement.

detection was carried out with a microdevice directly immersed inside the 3 mL sample contained in the cell shown in Fig. 2 (it was only needed to insert the side where are the electrodes of the microdevices). The silicate measurement was repeated several times in the same sample and an unexpected increase of the analytical signal with time was observed. Since all components from the microdevice were in contact with the sample during the detection process, a possible release of silicates was suspected from one or more of the microdevice components. Thus, a contamination study in sodium chloride solution was performed and the following materials were analysed one by one: (i) an oxidized silicon wafer (SiO_2 : thickness: $1 \mu\text{m}$) where the metallic electrodes are deposited; (ii) a silicon oxide wafer with a Si_3N_4 passivation layer (Fig. 1A-a); (iii) a silicone resin covering the electric microconnections between the electrodes and the electric paths on the printed circuit board (Fig. 1A-b); (iv) a PolyChloroBiphenyl (PCB) plate where are the electric paths (Fig. 1A-c).

Each material/component was immersed separately in different NaCl solutions during at least 10 min and, then, a silicate detection procedure (Section 2.4) was applied. Cyclic voltammograms were recorded using a homemade gold ultramicroelectrode (see section 2.2) coupled with an Ag/AgCl/KCl (3 mol L^{-1}) reference electrode and a platinum counter electrode. Fig. 3 shows a comparison between results obtained in a blank solution (only NaCl solution) and the different samples in contact with every component of the microdevices.

The signal obtained on Fig. 3A with the oxidized silicon wafer without the Si_3N_4 layer (i: red line) shows a small peak at 0.30 V that might correspond to the silicomolybdic complex, indicating a release of silicates in the solution. However when the silicon wafer is covered with the passivation layer (ii: blue line) it did not provide any contamination to the solution (Fig. 3A). The silicon resin (iii) and the PCB printed circuit board (iv) clearly released silicates to the solution. The measurements of these solutions showed an oxidation peak corresponding to the silicomolybdic complex (Fig. 3B).

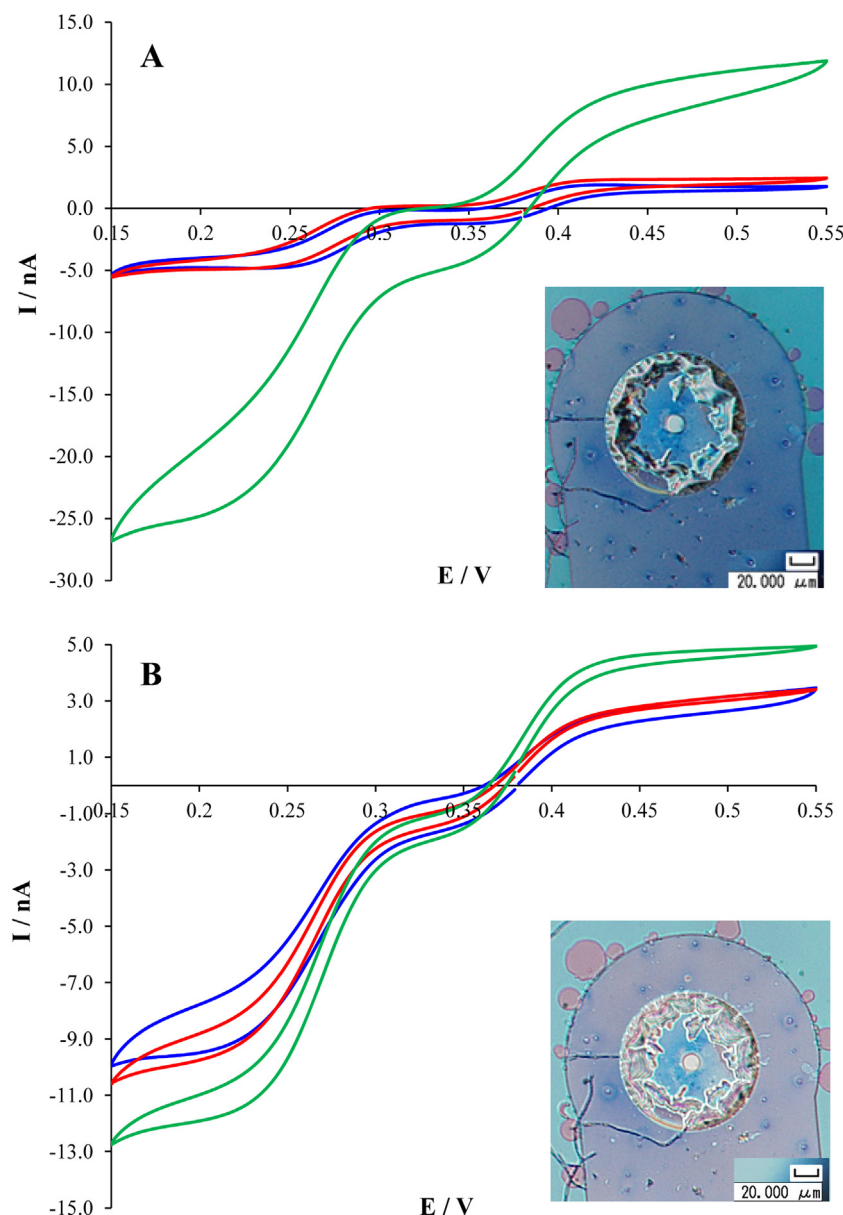


Fig. 5. Evolution with time of cyclic voltammograms obtained in sodium chloride solution containing $140 \mu\text{mol L}^{-1}$ of silicates using two gold UMEs (A and B) and Platinum counter electrode from the same microdevice and an external $\text{Ag/AgCl/KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$ reference electrode; scan rate 5 mV s^{-1} (blue line) 1st detection, (red line) 2nd detection and (green line) 3rd detection – Inserts A and B correspond to SEM observations of the gold UMEs in the center and the damaged Si_3N_4 layer.

For the resin, it has been also observed that the signal increases even more for longer immersion times up to 12 h (see Fig. 3B). Therefore, components (iii) and (iv) must be isolated from the sample during its measurement.

An electrochemical cell has been developed where one microdevice can be integrated into it (see scheme in Fig. 4) and allows to put only the electrode surfaces in contact with the sample during a measurement while the rest of the device, susceptible of releasing silicates, is properly isolated from the solution. This cell is made of Poly(methyl methacrylate) (PMMA) and has two distinct parts: at the bottom, there is a base where the microdevice is attached and, at the top, there is a reservoir where the sample is added (once the oxidation and complexation has been performed, for instance, using the procedure and cell described in Section 2.4). Between the reservoir and the microdevice, a waterproof seal is placed to prevent the contact of the solution with other microdevice components apart from the electrodes and avoid any release of silicate. As a validation of the good device insulation, a synthetic seawater

solution was kept in the cell reservoir with a microdevice attached into it for several days. The measurements performed afterwards did not detect any release of silicates to the sample.

3.2. Passivation layers study

A big challenge is the development of capping passivation layers for electrochemical devices that provide the required accuracy and robustness for continuous analysis in seawater. Si_3N_4 has been the material tested for the passivation layer in the electrochemical devices described in this work, either when the working electrodes are made of gold or platinum (ME and UME, see Section 2.1). The effectiveness of the Si_3N_4 insulating layer has been checked by observing the state of the gold and platinum electrodes with Scanning Electron Microscopy (SEM Hitachi S4800) once 20 measurements of samples with different silicates concentrations had been performed. Gold electrodes did not present a proper adherence to the Si_3N_4 passivation layer in silicate solutions which

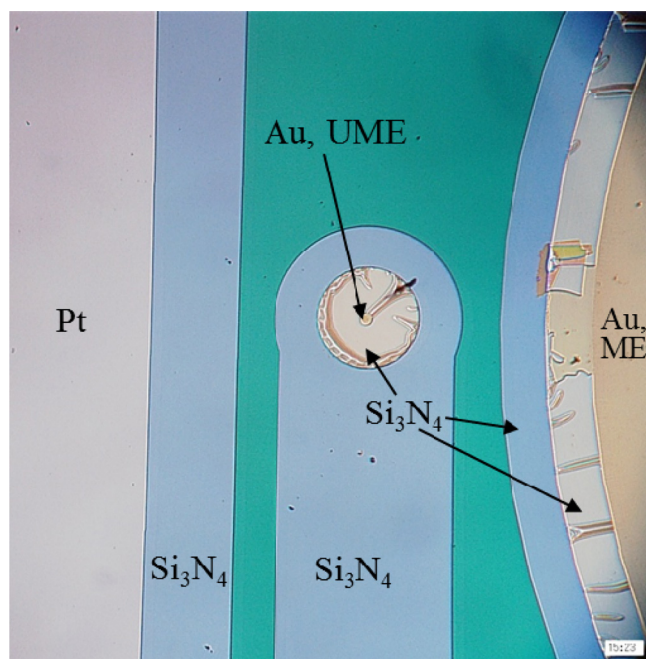


Fig. 6. Photo of a Scanning Electron Microscopy observation of a microdevice with gold ME and UME electrodes and a platinum counter electrode. In yellow/beige: Au; In grey: Pt; In blue: passivation layer (Si_3N_4) on the Pt; In light yellow: passivation layer (Si_3N_4) on Au; In green: passivation layer (Si_3N_4) on silicon oxide.

led to strong damages on them and, thus, to an increase of their electroactive area surface. This resulted in a lack of accuracy and reproducibility on their silicate determinations increasing with the number of uses of the microdevices. Fig. 5 shows both the damages observed by SEM on two representative ultramicroelectrodes from one microdevice (Fig. 5, inserts) and the evolution of cyclic voltammograms corresponding to three different detections of the same solution of $140 \mu\text{mol L}^{-1}$ of silicates. Between the first and third detection, the analytical signal measured with the first UME increased more than three times (Fig. 5A) and, for the second UME, the signal nearly doubled (Fig. 5B).

Same results were obtained for the gold macroelectrode (Fig. 6), which led to the conclusion that gold is not appropriate for silicate determinations under the conditions used in this work. Moreover, the silver reference electrode also presented seawater infiltrations underneath the silicon nitride (results not shown). Studies and improvements are still underway for isolating properly this electrode but, meanwhile, an external reference can be used for any silicate determination with no problems even in the final version of the *in situ* sensor.

The platinum electrodes showed a good adherence with silicon nitride in seawater. The layer stayed intact on the corresponding electrodes even after several experiments or several days of immersion in seawater with silicates (see counter electrode on Fig. 6). Thus, platinum has been chosen as the material for the microdevices working electrodes (the counter electrode is also made of platinum).

3.3. Analytical performances

Twelve different microdevices with platinum working electrodes (all the devices presented one ME of 2 mm of diameter and four UME of $15 \mu\text{m}$ of diameter) were tested by applying calibration measurements using the analytical procedures explained in Section 2.4 and the cell presented on Fig. 4. Different concentrations of silicate were prepared between 0.50 and $12.12 \mu\text{mol L}^{-1}$

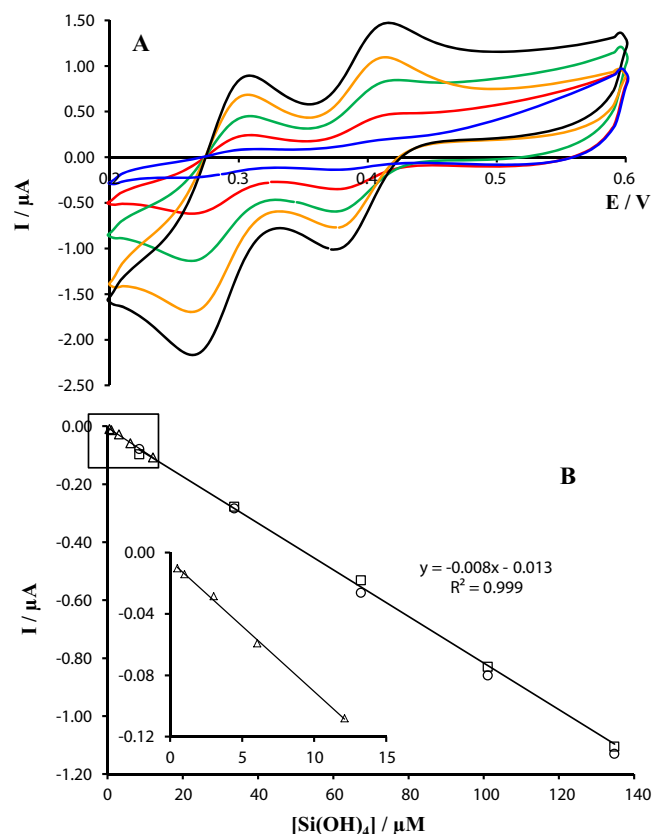


Fig. 7. (A) Cyclic voltammograms obtained in an sodium chloride solution containing $[\text{Si}(\text{OH})_4] = 8.42$ (blue line), 33.69 (red line), 67.38 (green line), 101.08 (orange line), 134.77 (black line) $\mu\text{mol L}^{-1}$ using the platinum working macroelectrode and Pt counter electrode from a microdevice and an external $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}$ (3 mol L^{-1}) reference electrode; scan rate 100 mV s^{-1} . (B) Calibration curves obtained between 8.42 and $134.77 \mu\text{mol L}^{-1}$ within a month of difference (\square and \circ markers) and between 0.50 and $12.12 \mu\text{mol L}^{-1}$ (\triangle markers)–Insert: zoom of calibration curve obtained between 0.50 and $12.12 \mu\text{mol L}^{-1}$.

and from 8.42 to $134.8 \mu\text{mol L}^{-1}$ in sodium chloride solution, to cover the whole range of those found in the open ocean. An external $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}$ (3 mol L^{-1}) reference electrode was used for all the measurements. The analytical signal was the intensity current measured in the 0.38 V reduction peak of their corresponding cyclic voltammograms. Among the twelve analysed microdevices, only one presented mechanical problems and did not provide any measurable signal. This device will not be taken into account for the following description of the devices analytical behaviour.

On one hand, silicate calibrations carried out with the macroelectrodes showed excellent results: 91% of the analysed MEs showed linear regressions superior to $R^2 = 0.995$ which demonstrate their outstanding analytical performance. As an example, in Fig. 7, two different calibrations (high concentration range) performed within a month of difference are presented (square and circle markers) using the ME of one microdevice for a concentration range from 8.42 to $134.8 \mu\text{mol L}^{-1}$. The agreement between both calibrations proves the good reproducibility that can be achieved with the macroelectrode. In fact, a low average deviation of 2.8% was obtained for currents measured repeatedly during a month using the same ME in a solution containing $67.1 \mu\text{mol L}^{-1}$ of silicates. After 3 months, the measurements could be replicated using the same microdevice. Similar results were obtained in a $134.8 \mu\text{mol L}^{-1}$ silicate sample. The sensitivity of the microdevices ME is also excellent, given by the excellent signal-to-noise ratio shown in Fig. 7A. On Fig. 7B, the triangle markers correspond to the calibration obtained for the lowest concentration range from 0.50

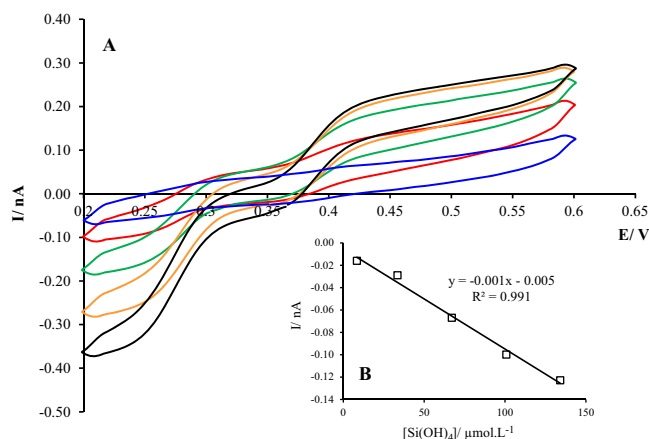


Fig. 8. A) Cyclic voltammograms obtained in an sodium chloride solution containing $[\text{Si(OH)}_4] = 8.44$ (blue line), 33.52 (red line), 67.14 (green line), 100.82 (orange line), 134.12 (black line) $\mu\text{mol L}^{-1}$ using a platinum working ultramicroelectrode and Pt counter electrode from a microdevice and an external Ag/AgCl/KCl (3 mol L^{-1}) reference electrode; scan rate 10 mV s^{-1} . (B) Calibration curve obtained measuring the intensity current of the reduction wave in the corresponding cyclic voltammograms.

to $12.12 \mu\text{mol L}^{-1}$ reported also in the insert of Fig. 7B with a larger scale. The limit of detection with ME is $0.50 \mu\text{mol L}^{-1}$. Altogether, the results obtained with the macroelectrodes demonstrate their remarkable precision, reproducibility, good stability and sensitivity that make them very useful for proper oceanographic applications.

On the other hand, 43% of all analysed ultramicroelectrodes in the devices (the total number of UMEs tested was 44) showed a high analytical accuracy with calibrations where $R^2 \geq 0.99$ was obtained. More interesting is that seven of the eleven microdevices tested had at least one ultramicroelectrode with this excellent performance. Fig. 8 shows both the different cyclic voltammograms of a silicate calibration performed with one ultramicroelectrode from a microdevice and the corresponding calibration curve (the analytical signal has been the current intensity measured in the reduction wave of the cyclic voltammograms). The limit of quantification obtained with UMEs is $8.44 \mu\text{mol L}^{-1}$.

It has been observed that, for the same silicate sample, the current intensity measured is not exactly reproducible between ultramicroelectrodes (even on the same microdevice). An inaccuracy on the UME surface during the microdevice fabrication seems to be the reason. Electrodes are fabricated with an imprecision of $\pm 1 \mu\text{m}$ on their diameter. For UMEs, this imprecision can lead to differences sufficiently large in their electroactive surface and, thus, to a difference on the measured currents for the same silicate concentration. This should not be a problem as the exact electroactive surface of UMEs can be electrochemically determined by analysing well known systems such as the ferri/ferrocyanide redox systems [46].

The presence of a ME and four UME altogether in a same microdevice offers a great advantage since it allows performing up to five automatic sequential silicate detections using a potentiostat and a MUX module (see Section 2.2). This provides to the user a wider range of results and a better accuracy for the silicate concentration measurement. Moreover, the combination of detection experiments from both ME and UME paves the way for a future calibration less procedure [51].

Platinum microdevices, especially using the integrated macroelectrodes, have provided excellent results and could be successfully integrated in silicate microsensors for oceanographic research. They will allow also to reduce the cost of the sensor and to facilitate its miniaturisation, as the design of the microdevices can be adapted as desired to fit into very small cells.

4. Conclusions

New silicon-based electrochemical microdevices with Si_3N_4 passivation layer, deposited at low temperature by ICP-CVD coupled with a non-aggressive lift-off process, have been developed for the determination of nutrients in seawater. A microdevice combines one macroelectrode (2 mm of diameter), four ultramicroelectrodes ($15 \mu\text{m}$ of diameter), one platinum counter electrode and one silver electrode that can be used as a reference electrode in seawater after chlorination. All the components of microdevices have been immersed individually in seawater during 10 minutes and the resulting solutions have been analysed using the electrochemical procedure for silicate determination. It appears that some of the materials used for the fabrication of the microdevice release silicates to the sample and contaminate it. Therefore, a new cell has been developed where the devices are inserted during the detection process in order to isolate all their components from the solution except the electrodes. Two different metals (Au and Pt) have been evaluated as working electrodes for *in situ* detection of silicate in seawater. On one hand, gold is not suitable for seawater applications since infiltrations of water were observed underneath the passivation layer due to a weak adherence between gold and Si_3N_4 layer in such a corrosive medium.

On the other hand, platinum working electrodes gave good results. Silicate calibrations, between 0.50 and $134.8 \mu\text{mol L}^{-1}$, in synthetic seawater have been performed to test the analytical performance of the microdevices. Ten of the eleven studied platinum macroelectrodes showed excellent linear regressions ($R^2 > 0.995$), very good limit of detection ($0.50 \mu\text{mol L}^{-1}$) and remarkable stability, lifetime and reproducibility as only 2.8% of the signal for a $67.1 \mu\text{mol L}^{-1}$ silicate sample decreased after four months of use. Moreover, seven of the eleven microdevices had at least one ultramicroelectrode that provided linear regressions superior to 0.99% in silicate calibrations. Work is underway to improve even more the performance of ultramicroelectrodes.

Altogether, the new Pt microdevices can be integrated in electrochemical sensors for the *in situ* determination of nutrients concentration in seawater. The sensors will be easily adaptable on different platforms due to the small size, low weight and low cost of fabrication of the microdevices. These properties will also allow the multiplication of the sensors to increase the spatio-temporal resolution of silicate data in the global ocean.

Acknowledgements

William Giraud and Emilie Vanhove were supported by the Foundation STAE (Sciences and Technologies for Space and Aeronautics, <http://www.fondation-stae.net/>) in the Midi-Pyrénées region within the project “MAISOE” (Microlaboratories of *in situ* Analysis for Environmental Observatories). David Aguilar was supported by the SenseOCEAN project: Marine sensors for the 21st Century funded by the European Commission Seventh Framework Programme under Grant Agreement 614141 (<http://www.senseocean.eu/>). Technological realizations were partly supported by the French RENATECH network. The authors want to thank Professor Maurice Comtat from Laboratoire de Génie Chimique in Toulouse for helpful discussions.

References

- [1] J. Wang, *Analytical Electrochemistry*, 2nd ed., Wiley-VCH, 2001, pp. 222.
- [2] D. Zheng, X. Liu, H. Cao, S. Zhu, Y. Chen, An electrochemical microsensor for the detection of nitric oxide, *Anal. Lett.* 46 (2013) 790–802.
- [3] S.N. Robledo, V.G.L. Zanchetti, M.A. Zon, H. Fernández, Quantitative determination of tocopherols in edible vegetable oils using electrochemical ultra-microsensors combined with chemometric tools, *Talanta* 116 (2013) 964–971.

- [4] J. Orozco, C. Fernández-Sánchez, C. Jiménez-Jorquera, Ultramicroelectrode array based sensors: a promising analytical tool for environmental monitoring, *Sensors* 10 (2010) 475–490.
- [5] C.E. Reimers, Applications of microelectrodes to problems in chemical oceanography, *Chem. Rev.* 107 (2007) 590–600.
- [6] T.S. Moore, K.M. Mullaugh, R.R. Holyoke, A.S. Madison, M. Yücel, G.W. Luther III, Marine chemical technology and sensors for marine waters: potentials and limits, *Annu. Rev. Mar. Sci.* 1 (2009) 91–115.
- [7] G. Denuault, Electrochemical techniques and sensors for ocean research, *Ocean Sci.* 5 (2009) 697–710.
- [8] A.R. Abdur Rahman, S. Bhat, S. Bhansali, Design, fabrication, and impedance characterization of a capacitance-based salinity sensor for marine applications, *J. Electrochem. Soc.* 155 (2008) 355–360.
- [9] P. Zhao, W.-J. Cai, pH polymeric membrane microelectrodes based neutral carriers and their application in aquatic environments, *Anal. Chim. Acta* 395 (1999) 285–291.
- [10] N. Le Bris, P.M. Sarradin, S. Pennec, A new deep-sea probe vent biological communities, *Deep-Sea Res.* 48 (2001) 1941–1951.
- [11] K. Ding, W.E. Seyfried, In situ measurement of pH and dissolved H₂ in mid-ocean ridge hydrothermal fluids at elevated temperatures and pressures, *Chem. Rev.* 107 (2007) 601–6022.
- [12] T.R. Martz, J.G. Connery, K.S. Johnson, Testing the Honeywell Durafet® for seawater pH applications, *Limnol. Oceanogr.: Methods* 8 (2010) 172–184.
- [13] O. Nir, E. Marvin, O. Lahav, Accurate and self-consistent procedure for determining pH in seawater desalination brines and its manifestation in reverse osmosis modelling, *Water Res.* 64 (2014) 187–195.
- [14] T. Komada, C.E. Reimers, S.E. Boehme, Dissolved inorganic carbon profiles and fluxes determined using pH and pCO₂ microelectrodes, *Limnol. Oceanogr.* 43 (1998) 769–781.
- [15] T. Ishiji, D.W. Chipman, T. Takahashi, K. Takahashi, Amperometric sensor for monitoring of dissolved carbon dioxide in seawater, *Sens. Actuators B* 76 (2001) 265–269.
- [16] M. Whitfield, D. Jagner, Marine electrochemistry: A practical introduction, *Wiley* (1981) 542.
- [17] N.P. Revsbech, An oxygen microelectrode with a guard cathode, *Limnol. Oceanogr.* 34 (1989) 472–476.
- [18] N.P. Revsbech, L.H. Larsen, J. Gundersen, T. Dalsgaard, O. Ulloa, B. Thamdrup, Determination of ultra-low oxygen concentrations in oxygen minimum zones by the STOX sensor, *Limnol. Oceanogr.: Methods* 7 (2009) 371–381.
- [19] N.P. Revsbech, B. Thamdrup, J.T. Dalsgaard, D.E. Canfield, Construction of STOX oxygen sensors and their application for determination of O₂ Concentrations in oxygen minimum zones, *Methods Enzymol.* 486 (2011) 325–341.
- [20] G.W. Luther III, B.T. Glazer, S. Ma, R.E. Trouwborst, T.S. Moore, E. Metzger, C. Kraiwa, T.J. Waite, G. Druschel, B. Sundby, M. Tallefert, D.B. Nuzzio, T.M. Shank, B.L. Lewis, P.J. Brendel, Use of voltammetric solid-state (micro)electrodes for studying biogeochemical processes: Laboratory measurements to real time measurements with an in situ electrochemical analyzer (ISEA), *Mar. Chem.* 108 (2008) 221–235.
- [21] M.-L. Tercier-Waeber, F. Confalonieri, G. Riccardi, A. Sina, S. Noël, J. Buffle, F. Graziottin, Multi physical-chemical profiler for real-time in situ monitoring of trace metal speciation and master variables: Development, validation and field applications, *Mar. Chem.* 97 (2005) 216–235.
- [22] R. Güell, A. Aragay, C. Fontàs, E. Anticó, A. Merkoçi, Sensitive and stable monitoring of lead and cadmium in seawater using screen-printed electrode and electrochemical stripping analysis, *Anal. Chim. Acta* 627 (2008) 219–224.
- [23] K. Malzahn, J.R. Windmiller, G. Valdés-Ramírez, M.J. Schöning, J. Wang, Wearable electrochemical sensors for in situ analysis in marine environments, *Analyst* 136 (2011) 2912–2917.
- [24] G. Herzog, W. Moujahid, K. Twomey, C. Lyons, V.I. Ogurtsov, On-Chip electrochemical microsystems for measurements of copper and conductivity in artificial seawater, *Talanta* 116 (2013) 26–32.
- [25] A. Berduque, Y.H. Lanyon, V. Beni, G. Herzog, Y.E. Watso, K. Rodgers, F. Stam, J. Alderman, D.W.M. Arrigan, Voltammetric characterisation of silicon-based microelectrode arrays and their application to mercury-free stripping voltammetry of copper ions, *Talanta* 71 (2007) 1022–1030.
- [26] W. Moujahid, P. Eichelmann-Daly, J. Strutwolf, V.I. Ogurtsov, G. Herzog, D.W.M. Arrigan, Microelectrochemical systems on silicon chips for the detection of pollutants in seawater, *Electroanalysis* 23 (2011) 147–155.
- [27] J. Buffle, M.-L. Tercier-Waeber, Voltammetric environmental trace-metal analysis and speciation: from laboratory to in situ measurements, *Trends Anal. Chem.* 24 (2005) 172–191.
- [28] C. Colombo, C.M.G. Van den Berg, A. Daniel, A flow cell for on-line monitoring of metals in natural waters by voltammetry with a mercury drop electrode, *Anal. Chim. Acta* 346 (1997) 101–111.
- [29] E.P. Achterberg, C.M.G. Van den Berg, C. Colombo, High resolution monitoring of dissolved Cu and Co in coastal surface waters of the Western North Sea, *Cont. Shelf Res.* 23 (2003) 611–623.
- [30] M.-L. Tercier, J. Buffle, F. Graziottin, A novel voltammetric in-situ profiling system for continuous real-time monitoring of trace elements in natural waters, *Electroanalysis* 10 (1998) 355–363.
- [31] C. Belmont, M.-L. Tercier, J. Buffle, G.C. Fiaccabrino, M. Koudelka-Hep, Mercury-plated iridium-based microelectrode arrays for trace metals detection by voltammetry: optimum conditions and reliability, *Anal. Chim. Acta* 329 (1996) 203–214.
- [32] R. Feeney, S.P. Kounaves, On-site analysis of arsenic in groundwater using a microfabricated gold ultramicroelectrode array, *Anal. Chem.* 72 (2000) 2222–2228.
- [33] M.-L. Tercier, N. Parthasarathy, J. Buffle, Reproducible, reliable and rugged Hg-plated Ir-based microelectrode for in situ measurements in natural waters, *Electroanalysis* 7 (1995) 55–63.
- [34] M.-L. Tercier-Waeber, J. Pei, J. Buffle, G.C. Fiaccabrino, M. Koudelka-Hep, G. Riccardi, F. Confalonieri, A. Sina, F. Graziottin, A novel voltammetric probe with individually addressable gel-integrated microsensor arrays for real-time high spatial resolution concentration profile measurements, *Electroanalysis* 12 (2000) 27–34.
- [35] G.W. Luther III, P.J. Brendel, B.L. Lewis, Simultaneous measurement of O₂, Mn, Fe, I⁻, and S(-II) in marine pore waters with a solid-stage voltammetric micro-electrode, *Limnol. Oceanogr.* 43 (1998) 325–333.
- [36] G.W. Luther III, B.T. Glazer, L. Hohmann, J.I. Popp, M. Tallefert, T.F. Rozan, P.J. Brendel, S.M. Theberge, D.B. Nuzzio, Sulfur speciation monitored in situ with solid state gold amalgam voltammetric microelectrodes: polysulfides as a special case in sediments, microbial mats and hydrothermal vent waters, *J. Environ. Monit.* 3 (2001) 61–66.
- [37] B. Sundby, M. Caetano, C. Vale, C. Gobeil, G.W. Luther III, D.B. Nuzzio, Root-induced cycling of lead in salt marsh sediments, *Environ. Sci. Technol.* 39 (2005) 2080–2086.
- [38] M. Lacombe, V. Garçon, M. Comtat, L. Oriol, J. Sudre, D. Thouron, N. Le Bris, C. Provost, Silicate determination in sea water: Toward a reagentless electrochemical method, *Mar. Chem.* 106 (2007) 489–497.
- [39] M. Lacombe, V. Garçon, D. Thouron, N. Le Bris, M. Comtat, Silicate electrochemical measurements in seawater: Chemical and analytical aspects towards a reagentless sensor, *Talanta* 77 (2008) 744–750.
- [40] R. Feeney, S.P. Kounaves, Microfabricated ultramicroelectrode arrays: developments, advances, and applications in environmental analysis, *Electroanalysis* 12 (2000) 677–684.
- [41] A.K. Diallo, L. Djeghlaf, L. Mazenq, J. Launay, W. Sant, P. Temple-Boyer, Development of pH-based ElecFET biosensors for lactate ion detection, *Biosens. Bioelectron.* 40 (2013) 291–296.
- [42] C. Christophe, F. Sékli Belaidi, J. Launay, P. Gros, E. Questel, P. Temple-Boyer, Elaboration of integrated microelectrodes for the detection of antioxidant species, *Sens. Actuators B* 177 (2013) 350–356.
- [43] G. Schmitt, J.-W. Schultze, F. Faßbender, G. Buß, H. Lüth, M.J. Schöning, Passivation and corrosion of microelectrode arrays, *Electrochim. Acta* 44 (1999) 3865–3883.
- [44] A. Tsopela, A. Lale, E. Vanhove, O. Reynes, I. Séguy, P. Temple-Boyer, P. Juneau, R. Izquierdo, J. Launay, Integrated electrochemical biosensor based on algal metabolism for water toxicity analysis, *Biosens. Bioelectron.* 61 (2014) 290–297.
- [45] M.A. Nolan, S.P. Kounaves, Failure analysis of microfabricated iridium ultramicroelectrodes in chloride media, *Sens. Actuators B* 50 (1998) 117–127.
- [46] E. Vanhove, A. Tsopéla, L. Bouscayrol, A. Desmoulin, J. Launay, P. Temple-Boyer, Final capping passivation layers for long-life microsensors in real fluids, *Sens. Actuators B* 178 (2013) 350–358.
- [47] M. Aufray, A.A. Roche, Residual stresses and practical adhesion effect of organometallic complex formation and crystallization, *J. Adhes. Sci. Technol.* 20 (16) (2006) 1889–1903.
- [48] J. Joñca, C. Barus, W. Giraud, D. Thouron, V. Garçon, M. Comtat, Electrochemical behaviour of isopoly- and heteropolyoxomolybdates formed during anodic oxidation of molybdenum in seawater, *Int. J. Electrochem. Sci.* 7 (2012) 7325–7348.
- [49] N.G. Carpenter, A.W.E. Hodgson, D. Pletcher, Microelectrode procedures for the determination of silicate and phosphate in waters—fundamental studies, *Electroanalysis* 9 (1997) 1311–1317.
- [50] A.W.E. Hodgson, D. Pletcher, Microelectrode procedures of the analysis of silicate and phosphate—towards practical procedures, *Electroanalysis* 10 (1998) 321–325.
- [51] W. Giraud, L. Lesven, J. Joñca, C. Barus, L. Gourdail, D. Thouron, V. Garçon, M. Comtat, Reagentless and calibrationless silicates measurement in oceanic water, *Talanta* 97 (2012) 157–162.

Biographies

Dr. David Aguilar Camaño is a SenseOCEAN post-doctoral researcher developing new electroanalytical methodologies for the measurement of silicates and phosphates in sea water. In December 2009, he finished his PhD aimed to the synthesis and analysis of coordination and organometallic complexes with biological and catalytic applications (University of Zaragoza, Spain). From December 2009 to March 2014, he joined the University of Lleida (Spain) where he collaborated in different EU projects and gained wide expertise in the speciation analysis of natural waters using electrochemistry.

Dr. Carole Barus received her Ph. D. degree in 2008 from University of Toulouse, France in Chemical Engineering and Environment with a focus on electrochemical sensors and processes. Since 2011, she is a Research Engineer in Analytical Electrochemistry at LEGOS (Laboratoire d'Etudes en Géophysique et Océanographie Spatiales, Toulouse, France) and project manager of the ANESIS project (Autonomous Nutrient Electrochemical Sensor In Situ). Her research activities contribute to develop new chemical and electrochemical sensors for oceanographic applications.

Dr. William Giraud received his Ph. D. degree from University of Toulouse, France in 2009 in Electrochemistry and worked as Research Engineer in Chêne & Cie society in Bordeaux before joining the MAISOE (Microlaboratories of in situ analyses for environmental observatories)/RTRA project in LEGOS, Toulouse during 2 years. After 1 year post-doctoral position at CEA in Grenoble, he is now Research Engineer at Cedre (Centre of Documentation, Research and Experimentation on Accidental Water Pollution) in Brest, France.

Elisa Calas did her internship at LEGOS during her technology degree “Physical Measurement” of University of Toulouse in 2013. She worked on the characterisation of platinum microdevices in seawater. She then had a 6 months contract at LEGOS to work on the sulphur detection in waste waters and she is now doing a professional license in Materials at University of Toulouse.

Dr. Emilie Vanhove graduated in Science and Executive Engineering from the MINES Paris Tech (Ecole des Mines de Paris) in 2006. She joined the CEA (French Alternative Energies and Atomic Energy Commission, Paris, France) laboratory in 2006 and received a PhD in Materials Science in 2009 from the same school. In 2010, she joined the “Laboratoire d’Analyse et d’Architecture des Systèmes” of the “Centre National de la Recherche Scientifique” (LAAS-CNRS) in Toulouse (France) as a postdoctoral fellow. Her research interests are focused on the design, modelling, simulation, microfabrication and characterization of integrated electrochemical microsensors.

Adrian Laborde received his “Physical Measurement” degree of technology from the Toulouse University (France) in 2008. He then obtained his professional license of “Instrumentation and test in complex environment” in 2009. He finally joined the “Laboratoire d’Analyse et d’Architecture des Systèmes” (LAAS-CNRS) in the “Techniques and Equipments Applied to Microelectronics” (TEAM) service as an engineer in 2010. He is working on the development of photolithographic processes for the manufacturing of integrated micro/nanodevices.

Dr. Jérôme Launay received the degree in Electronic engineering from the “Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse” (France) in 1998. He joined the “Laboratoire d’Analyse et d’Architecture des Systèmes” (LAAS-CNRS) in 1998 and received the PhD degree from the Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse (France) in 2001. In 2002, he became lecturer at the University Paul Sabatier de Toulouse (France). His research activities include development of chemical microsensors for detection in liquid phase.

Dr. Pierre Temple-Boyer received his Engineer’s Degree in electronic engineering from the “Ecole Supérieure d’Electricité” (Paris–France) in 1990 and his Master’s Degree in Microelectronics from the University of Toulouse (France) in 1992. He joined the “Laboratoire d’Analyse et d’Architecture des Systèmes” (LAAS) from the French “Centre National de la Recherche Scientifique” (CNRS) in 1992 and received the PhD degree from the “Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse” (France) in 1995. Since then, as a CNRS researcher, he has worked at LAAS on the development of physical and chemical microsensors using silicon technologies.

Nicolas Striebig is a mechanical engineer at CNRS. During more than 10 years, he has been working on mechanical design and development of seismometers for Mars exploration at “Division Technique de l’Institut National des Sciences de l’Univers” and “Institut de Physique du Globe de Paris”. In 2007, he joined the “Groupe d’Instrumentation Scientifique” of the “Observatoire Midi-Pyrénées” in Toulouse, France. He has worked on projects in collaboration with the French, European, American and Russian space agencies. He is in charge of mechanical design and integration for scientific instrumentation (Ground and Embedded instruments, and Environmental sensors).

Michel Armengaud is a research engineer at CNRS since 1980. He joined Toulouse in 1982 and from 1982 to 1997 he did research in fusion plasmas. Between 1997 and 2008 he was project manager at IRAP (Institut de Recherche en Astrophysique et Planétologie) in the field of scientific instrumentation for physico-chemical studies of interstellar medium. In 2008 he became Technical Director of the “Observatoire Midi-Pyrénées” and has participated to the development of new sensors for oceanography in collaboration with LEGOS.

Dr Véronique Garçon is a CNRS Senior Scientist at LEGOS where she leads the group on Physical Dynamics/Marine Biogeochemistry. Her main fields of expertise are marine biogeochemistry and ecosystem dynamics; large-scale ocean circulation and tracers; global carbon and nitrogen cycles and biogeochemical climatic monitoring (chemical sensors development). She is involved in various international programmes on climate change and its impact on the marine ecosystems and biogeochemical cycles. She participates many international scientific steering committees ((IGBP/JGOFS and SOLAS), European ones (ESF, COST Action, Marie Curie Expert Panel for Environment, PML Science Advisory Council), and national ones (French National Council of Universities, IFREMER, French Navy, CNRS National Committee).



Toward an *in situ* phosphate sensor in seawater using Square Wave Voltammetry



C. Barus^{a,1,*}, I. Romanytsia^{a,1}, N. Striebig^b, V. Garçon^a

^a Laboratoire d'Etudes en Géophysique et Océanographie Spatiales, UMR 5566, Université de Toulouse, CNRS, CNES, IRD, UPS, 18 Avenue Edouard Belin, Toulouse Cedex 9, 31401 France

^b Observatoire Midi-Pyrénées, 14 Avenue Edouard Belin, Toulouse Cedex 9, 31401 France

ARTICLE INFO

Article history:

Received 29 April 2016

Received in revised form

19 July 2016

Accepted 24 July 2016

Available online 25 July 2016

Keywords:

Phosphate *in situ* detection

Square Wave Voltammetry

Frequency influence

Small volume prototypes validation

ABSTRACT

A Square Wave Voltammetry electrochemical method is proposed to measure phosphate in seawater as pulse techniques offer a higher sensitivity as compared to classical cyclic voltammetry. Chronoamperometry cannot be either adapted for an *in situ* sensor since this method requires to have controlled convection which will be impossible in a miniaturised sensor. Tests and validation of Square Wave Voltammetry parameters have been performed using an open cell and for the first time with a small volume ($< 400 \mu\text{L}$) laboratory prototypes. Two designs of prototypes have been compared. Using high frequency ($f=250 \text{ Hz}$) allows to obtain a linear behaviour between 0.1 and $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ with a very low limit of detection of $0.05 \mu\text{mol L}^{-1}$ after 60 min of complexation waiting time. In order to obtain a linear regression for a larger concentration range i.e. $0.25\text{--}4 \mu\text{mol L}^{-1}$, a lower frequency of 2.5 Hz is needed. A limit of detection of $0.1 \mu\text{mol L}^{-1}$ is obtained in this case after 30 min of complexation waiting time for the peak measured at $E=0.12 \text{ V}$. Changing the position of the molybdenum electrode for the complexation step and moving the detection into another electrochemical cell allow to decrease the reaction time down to 5 min.

© 2016 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Inorganic phosphorus in form of dissolved orthophosphate in natural waters (lakes, rivers, oceans) is one of the major nutrient elements in aquatic organisms, easily uptaken by primary producers. Monitoring nutrients concentrations will allow to better understand the major biogeochemical cycles and the ocean role in climate evolution. Developing new autonomous, interferences free, *in situ* sensors with high level of miniaturisation, low energy consumption, good accuracy and robustness and adaptable on underwater vehicles for improving our long term observing capacities constitutes an immense challenge.

The most widely used method is based on colorimetric detection of phosphomolybdenum blue formed by complexation of phosphate with acidified molybdate in presence of ascorbic acid and antimony (Sb(III)) as a reductant. The maximum of absorbance is at 880 nm [1,2]. Recently Nagul et al. and Worsfold et al. reviewed the different methods used to measure phosphate ions concentration in fresh and sea waters [3,4]. The authors discussed

the optimal conditions for selective detection of phosphomolybdenum blue such as the appropriate concentrations of acid and molybdate, the influence of interferences and the variety of reductants and acids used as they lead to the formation of different phosphomolybdenum blue species with different absorbance spectra [5–8]. Fluorescence reactions are also used to detect phosphate in seawater as they are more sensitive than spectrophotometric methods [4,9–12]. The recent developments in microfluidics and lab on chips allow to decrease the amount of reagents needed to detect phosphate by colorimetric detection using vanadomolybdate method [13], suitable for *in situ* sensor deployments. However the stability of reagents in time is still an issue.

Colorimetric methods provide indeed good sensitivity but suffer from interferences and refractive index effects [14]. On the contrary electroanalytical methods do not suffer from the refractive index interference [15] and provide a promising approach to go further in miniaturisation and energy requirements.

The electrochemical determination of phosphates under the form of phosphomolybdic complex has been performed by amperometry [15–20], linear or cyclic voltammetry [21–26] or pulse techniques [27–29]. However all these electrochemical methods require addition of reagents or use of modified screen-printed electrodes with preloaded reagents [30] or even enzymatic systems [31] with limited life times and/or limited quantities

* Corresponding author.

E-mail address: carole.barus@legos.obs-mip.fr (C. Barus).

¹ First co-authors.

available for sensor applications. Technology developed in our laboratory does not require any addition of liquid reagents and is interferences free. All the conditions necessary for phosphate detection are created *in situ* by simple electrolyses of metallic molybdenum electrodes [32,33].

Initially tested amperometric detection of phosphomolybdenic complex required a rotating electrode and consequently exhibited high energy consumption. The phosphate concentrations range in the ocean varies between a few nanomolars in the surface ocean and close to $5 \mu\text{mol L}^{-1}$ at deeper levels and cyclic voltammetry is not sensitive enough to detect the nanomolar concentration of phosphates [24,25]. Jońca et al. [33] proposed to use pulse techniques such as differential pulse voltammetry (DPV) and an advanced design electrochemical cell with membrane technology for detection of phosphomolybdenic complex without stirring. The DPV showed good sensitivity with a detection limit of $0.19 \mu\text{M}$ of phosphate. However continuous tests in the laboratory showed a difficulty of measurements with DPV because of the complexity of parameters to optimise and a lack of reproducibility, so another pulse technic, more sensitive, called Square Wave Voltammetry (SWV) has been preferred and adapted for the first time to miniaturised laboratory prototypes. For practical analysis, SWV is generally the best method among all pulse techniques, as it offers an optimal combination of background suppression and higher sensitivity than DPV, much faster scan times and applicability to a wider range of electrode materials and systems [34].

This work will present the recent developments of an electrochemical phosphate sensor: firstly, using a laboratory open cell in order to define and optimise all the SWV parameters and secondly, using two laboratory sensor prototypes with smaller sample volumes ($< 400 \mu\text{L}$). We will discuss the influence of parameters, particularly the used frequency, on obtained signals and calibration curves.

2. Experimental section

2.1. Chemicals

All solutions were prepared in Milli-Q water (Millipore Milli-Q water system). Phosphate solutions were prepared with potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4 , Merck) in the concentration range between 0.05 and $6 \mu\text{mol L}^{-1}$. Absence of silicate interference is checked using a solution of sodium hexafluorosilicate (Na_2SiF_6) purchased from Carlo Erba at $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. The electrolyte was either sodium chloride solution, $\text{pH} \approx 4.5$, (NaCl supplied by Merck) at 34.5 g L^{-1} ($[\text{Cl}^-] = 0.6 \text{ mol L}^{-1}$), or artificial seawater, $\text{pH} \approx 7$ made with 30.36 g of sodium chloride ($[\text{Cl}^-] = 0.52 \text{ mol L}^{-1}$), 6.74 g of magnesium sulphate heptahydrate ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, VWR) and 0.16 g of sodium hydrogenocarbonate (NaHCO_3). Previous work performed in the laboratory showed no difference on signals recorded with NaCl solution, artificial seawater or natural seawater, therefore NaCl is mainly used as a solvent to prepare phosphate solutions.

Sulphuric acid solution at 0.5 mol L^{-1} used to clean electrode surfaces is prepared from a $98\% \text{ H}_2\text{SO}_4$ solution supplied by Merck.

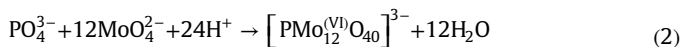
All metals were purchased from GoodFellow (molybdenum, silver, gold, platinum).

2.2. Material and electrochemical cells

Electrochemical measurements are carried out at room temperature, under atmospheric conditions with $\mu\text{-Autolab III}$ potentiostat (Metrohm) using the NOVA software. A conventional three-electrode system was used for all the experiments. Platinum grids acted as a counter electrode and two reference electrodes

$\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-$ were used: commercial electrode $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{KCl}$ (3 mol L^{-1} , Metrohm®) and homemade electrode ($\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-$ produced from 1 mm diameter silver wire potted in epoxy resin, covered with AgCl salt and immersed into Cl^- solutions ($[\text{Cl}^-] = 0.6$ or 0.52 mol L^{-1} depending on the electrolyte used). Two gold discs were used as working electrodes: 3 mm diameter commercial electrode (Metrohm®) and 2 mm diameter homemade electrode (gold wire potted in epoxy resin). The gold electrodes were polished firstly with aluminium oxide ($0.3 \mu\text{m}$ diameter) and then electrochemically cleaned in 0.5 mol L^{-1} sulphuric acid solution by cyclic voltammetry between 0 and 1.5 V at 100 mV s^{-1} until reproducible cycles are obtained. Before each measurement 10 cyclic voltammograms between 0.8 and -0.2 V at 100 mV s^{-1} are recorded in electrolyte solutions, either NaCl or artificial seawater.

Molybdenum electrodes are oxidised at 2 V in order to produce molybdates and protons (Eq. (1)) necessary to form the phosphomolybdenic complex (Eq. (2)) which is detected on gold electrodes.



The procedure for *in situ* reagents formation and phosphate detection without silicate interference has been previously described by Jońca et al. [33]. The electrochemical cell to detect phosphates is divided in three compartments. In the first one, a primary molybdenum electrode is oxidised and thanks to a very thin ($30 \mu\text{m}$) proton exchange membrane (FuMaTech, fumapem®F-930) only protons can pass through to the second compartment reaching $\text{pH} = 1$. In the second compartment, a secondary molybdenum electrode is oxidised during a short time in order to obtain the ratio protons over molybdates of 70 allowing to detect phosphate without the interference of silicate. To avoid the reduction of protons formed during the two previous oxidations of molybdenum, the counter electrode is isolated behind a non-proton exchange membrane with thickness of $180 \mu\text{m}$ (N117 Du Pont™ Nafion® PFSA Membranes) (third compartment).

With the open cell, previously described by Jońca et al. [33], the commercial reference and gold electrodes as well as 2 molybdenum rods were used. The first and second compartment volumes were 1 mL and 3 mL , respectively, and the solution was stirred with a rotating electrode spinning at 2000 rpm during the molybdenum oxidations.

Then, the principle of *in situ* detection has been adapted to small volumes compartments of the laboratory prototypes presented on Fig. 1(A and B). The prototypes, designed in collaboration with the Groupe d'Instrumentation Scientifique (GIS) of Midi-Pyrénées Observatory of Toulouse are made in PMMA (poly(methyl methacrylate)) and assembled in INOX 316L housing. The homemade electrodes (Au and $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-$) and molybdenum electrodes with specific designs were used in both prototypes. The compartment for the first oxidation of Mo separated by the proton exchange membrane (FuMaTech, fumapem®F-930), with volume of $186.4 \mu\text{L}$, is the same for both prototypes (A and B1). The counter electrode is placed on top of the prototypes (A and B) in the cylindrical reservoirs and is separated from the inside of the compartment underneath by a non-proton exchange membrane (N117 Du Pont™ Nafion® PFSA Membrane).

In the prototype (A), the second compartment with a volume of $373 \mu\text{L}$ included the second molybdenum electrode (to reach the ratio $\text{H}^+/\text{MoO}_4^{2-} = 70$) placed at the bottom of the compartment (opposite to the reservoir), as well as the gold working electrode and the silver reference electrode placed on the side of the compartment. So the phosphomolybdenic complex is formed and

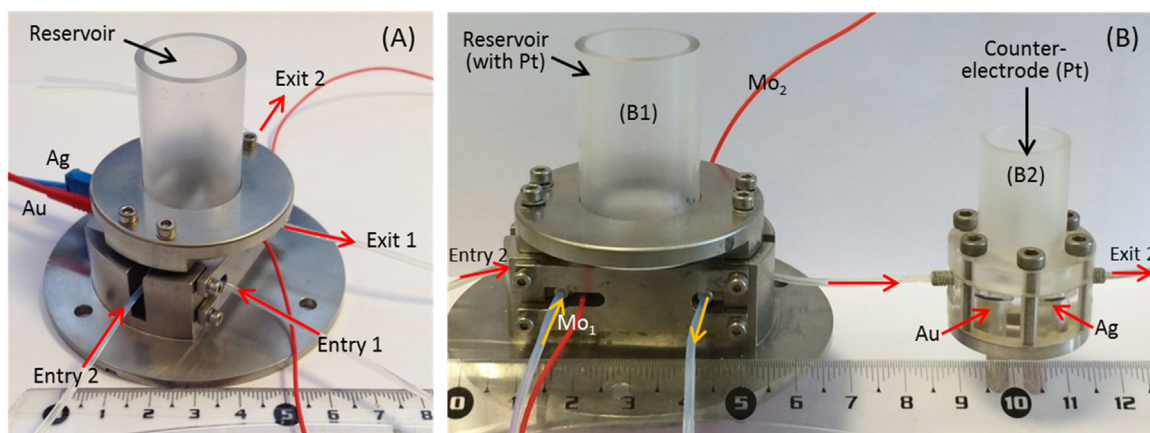


Fig. 1. Photos of laboratory prototypes for *in situ* detection of PO_4^{3-} in seawater without any liquid reagent addition or silicate interference (A) with complexation and detection reactions occurring in the same compartment and (B) with detection compartment apart (B1: complexation compartment and B2: detection compartment).

detected in the same compartment on this prototype (A).

On the contrary, in the prototype (B), the formation of the complex and its detection are separated in space. Indeed, in the second compartment of the (B1) part of the prototype (B) only the second molybdenum electrode is present with a higher surface than in prototype (A) and placed on the side of the compartment in order to decrease homogenisation time of the solution and so the complexation time. After the phosphomolybdic complex is formed, it is then transferred within the detection compartment with a volume of 91 μL (Fig. 1(B2)) where homemade gold working and silver reference electrodes are inserted.

Two solenoid pumps (50 μL) from Lee Company[®] controlled by electronic card connected to μ -Autolab III potentiostat (Metrohm[®]) are used to fill the 2 compartments of prototypes (A and B) with analytical samples, as well as to transfer the solution to the detection compartment for the prototype (B2).

2.3. Square Wave Voltammetry (SWV)

Previous work performed by Jońca et al. [32,33] with an open cell used chronoamperometry to detect phosphate. This hydrodynamic method requires to force and control convection of the solution by using a rotating disk working electrode. Therefore, this method cannot be used with the *in situ* sensor as it will be impossible to stir the solution. Indeed the volumes are too small, and mechanical stirring costs a lot of energy. So, in order to detect phosphate, in the open ocean concentrations range, pulse techniques are proposed as they provide high quality data and an enhanced sensitivity as compared to cyclic voltammetry or chronoamperometry thanks to a potential modulation (potential ramp combined with short-term potential pulses) and to the way the current is sampled [34,35].

There are indeed two different electrochemical currents: the faradaic current (I_f) and the capacitive current (I_c). The faradaic current corresponds to the reduction or oxidation of chemical species in the cell, which involved the transfer of one or several electron(s) across the interface between a metallic electrode surface and a solution phase (electrolyte). On the contrary, the capacitive current also called “non-faradaic current” or “charging current”, corresponds to the charging/discharging of the electrical double layer capacitance and does not involve any chemical reaction (charge transfer). Therefore, in order to obtain the highest sensitivity (corresponding to the electron(s) transfer) it is important to reduce the effect of the charging current and only measure the contribution of the faradaic current. Since the double layer charging current (I_c) is proportional to $I_c \propto e^{-t/RC}$, where t is

time, R the solution resistance and C the double layer capacitance, and the faradaic current (I_f) is proportional to $I_f \propto t^{-1/2}$, the capacitive current decreases much more rapidly than the faradaic current, allowing measurements to be made at a time when the charging current can be considered negligible [36].

Initial experiments using Differential Pulse Voltammetry (DPV) to detect phosphate showed good preliminary results [33]. However compared to Square Wave Voltammetry (SWV) the optimisation of DPV parameters was much harder and the reproducibility of the measurements was not satisfactory enough to use DPV in the sensor. Therefore, SWV is proposed to measure phosphate in the concentration range found in the open ocean.

The Square Wave Voltammetry waveform combines a staircase potential ramp (E_{step}) with large amplitude, short-term square-wave potential pulses characterised by the frequency (f in Hz) with $f = \frac{1}{\tau}$ where τ is the time for one square wave cycle (in seconds) and the height of the potential pulses or amplitude (E_{sw} in V) [37]. The corresponding scan rate is calculated from the equation $v = \frac{E_{\text{step}}}{\tau}$. E_{step} is normally significantly less than E_{sw} with common values of $E_{\text{step}} = \frac{10}{n}$ (mV) and $E_{\text{sw}} = \frac{50}{n}$ (mV) where n is the number of electrons exchanged [34]; however the smaller is E_{step} is, the better is the resolution [34]. The frequency varies over a wide range, typically $f = 1\text{--}500$ Hz.

The current is measured twice at the end of each pulse of opposite sign (I_1 for the forward pulse and I_2 for the reverse pulse). Delaying the current measurement to the end of the pulse allows minimising the contribution of the charging current. The resulting net current ($\Delta I = I_1 - I_2$) (true differential signal) is plotted versus the potential staircase: E_{step} . The peak obtained has a Gaussian form where the peak height is directly proportional to the concentration of the species in solution. Depending on the amplitude being used the resulting ΔI can be positive even for reduction processes [37].

3. Results and discussion

3.1. Optimisation of SWV parameters with the open cell

Several frequencies have been tested as well as step potential in order to obtain the highest peak intensities with the smallest noise as possible (results not shown). The amplitude has been fixed at $E_{\text{sw}} = 25$ mV corresponding to 2 electrons exchanged ($\frac{50}{n}$ (mV) – Eq. (3)). The optimum signal has been obtained using $f = 250$ Hz and a step potential of $E_{\text{step}} = 1$ mV, corresponding to a scan rate of $v = 250$ mV s⁻¹.

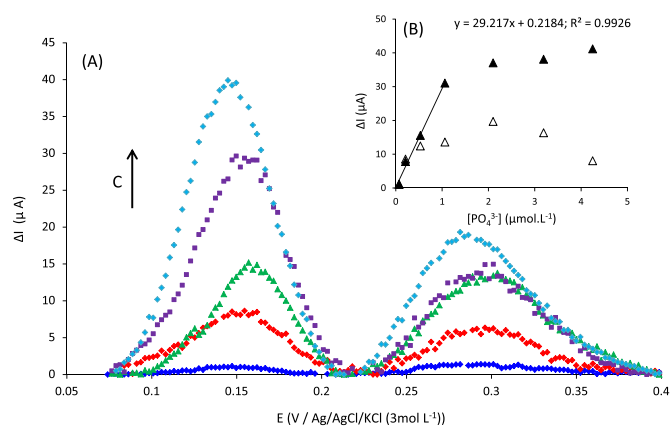
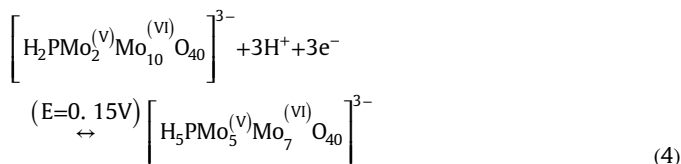
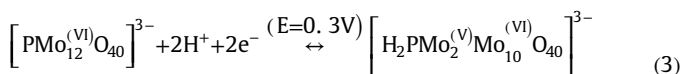


Fig. 2. (A) Square wave voltammograms at $f=250$ Hz ($E_{sw}=25$ mV – $E_{step}=1$ mV) on gold electrode ($\phi=3$ mm) obtained in NaCl solution (34.5 g L $^{-1}$) containing 0.07 , 0.21 , 0.53 , 1.06 and 2.09 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of PO_4^{3-} (B) corresponding calibration curves ($\Delta I=f([\text{PO}_4^{3-}])$) for peak at $E=0.3$ V (Δ) and for peak at $E=0.15$ V (\star) with regression.

Fig. 2 shows results obtained with the open cell using 3 mm diameter commercial gold working electrode for different concentrations of phosphate in NaCl solution. In the potential window between 0.40 V and 0.05 V used, two peaks are obtained around 0.3 V and 0.15 V corresponding to the reduction of the phosphomolybdic complex formed *in situ* after the oxidation of two molybdenum electrodes. A part of molybdenum $\text{Mo}^{(VI)}$ changes its oxidation state to form a mix of $\text{Mo}^{(V)}/\text{Mo}^{(VI)}$ complex by exchanging 2 then 3 electrons according to the following Eqs. (3 and 4) :



The corresponding calibration curve for peaks at 0.3 V and 0.15 V are presented in insert of Fig. 2(B). No linear regression is observed on the curve $\Delta I=f([\text{PO}_4^{3-}])$ obtained for the peak at $E=0.3$ V (Fig. 2(B – Δ)). The signal even decreases for the highest concentration of phosphate.

At $E=0.15$ V, a linear behaviour is obtained between 0.07 and 1.06 $\mu\text{mol L}^{-1}$ then the signal saturates over 1.06 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Fig. 2(B – \star)). Similar behaviours with signal saturation or two different regimes of linear behaviour for phosphate concentration determination have been observed in bibliography for different electrochemical methods [20,26,27]. Kircher and Crouch and later Maeda et al. and Jońca et al. showed the formation of different types of phosphomolybdic complexes depending on phosphate and proton concentrations and formation of polymer structures [21,38,39]. The hypothesis of polymers formation for the highest phosphate concentrations and their possible adsorption on the electrode surface [40–42] might explain the obtained results. These conditions could cause disturbance of the diffusion and/or make the electronic transfer harder. A slight shift of potential towards more cathodic potential is actually observed for the highest phosphate concentrations (Fig. 2(A), peak $E=0.12$ V). Furthermore, Carpenter et al. demonstrated that the electron transfer is not completely mass transport controlled. Indeed a homogenous chemical reaction probably protonation occurs before the

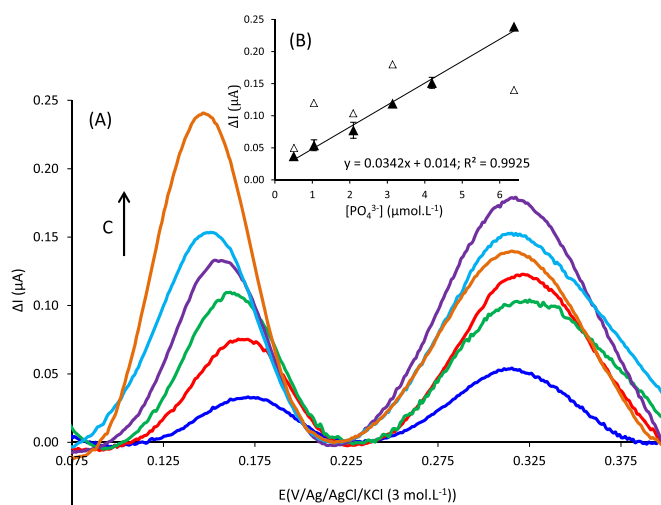


Fig. 3. (A) Square wave voltammograms at $f=2.5$ Hz ($E_{sw}=25$ mV – $E_{step}=1$ mV) on gold electrode ($\phi=3$ mm) obtained in NaCl solution (34.5 g L $^{-1}$) containing 0.502 , 1.04 , 2.09 , 3.14 , 4.19 and 6.38 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of PO_4^{3-} (B) corresponding calibration curves ($\Delta I=f([\text{PO}_4^{3-}])$) for peak at $E=0.3$ V (Δ) and for peak at $E=0.15$ V (\star) with regression.

reduction of the phosphomolybdic complex and slows down the electron transfer [22]. In order to give time to either the protonation pre-step or the complex diffusion and/or the electron transfer through polymer structures to occur, the frequency has been drastically decreased down to 2.5 Hz (corresponding to $\nu=2.5$ mV s $^{-1}$), keeping the same pulse amplitude and step potential. The results obtained for peaks at 0.3 V and 0.15 V at $f=2.5$ Hz for different concentrations of phosphate and the corresponding calibration curves are presented on Fig. 3.

For the peak at $E=0.3$ V, as previously observed at 250 Hz, no linear behaviour is obtained (Fig. 3(B – Δ)). The peak intensities oscillate with phosphate concentration indicating maybe instability of the formed complex.

For the peak at $E=0.15$ V, using low frequency ($f=2.5$ Hz) allows to achieve a linear calibration curve for the whole range of concentrations (from 0.5 to 4.19 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of PO_4^{3-}) and the saturation no longer appears (Fig. 3(B – \star)). A shift of peak potential towards more cathodic potential when phosphate concentration increases is clearly observed on Fig. 3(A) indicating a harder electron transfer at higher concentrations, in agreement with our previous hypothesis. As expected with this frequency, the limit of quantification is higher than previously: 0.5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ instead of 0.07 $\mu\text{mol L}^{-1}$ at 250 Hz. Depending on the oceanic area under study, either the upper ocean where nanomolar phosphate concentrations are observed or Eastern Boundary Upwelling Systems or the deep ocean where the highest phosphate concentrations are found, the frequency (scan rate) will be consequently adapted in order to obtain a linear calibration and suitable limit of quantification.

3.2. Adaptation of electrochemical parameters for the laboratory prototypes

All the parameters determined for SWV with the open cell have now to be adapted for the small volume prototypes designed in the laboratory (Fig. 1(A and B)), especially the charges for molybdenum oxidations. Since the solution is not stirred during molybdenum oxidations, contrary to the open cell, the homogenisation of the solution will only be due to diffusion and might take time. The geometry of the prototype and the electrodes orientation will have an influence on phosphate determination in particular on reagents diffusion and complex formation.

First of all, because the oxidation of molybdenum does not follow the Faraday's law as molybdenum oxides are also formed (MoO_2 , MoO_3 ...) and not only MoO_4^{2-} and H^+ [39], it is impossible to calculate the theoretical charges for both molybdenum oxidations and they have been determined experimentally. To control the value of the charge, the pH in the complexation compartment in both prototypes was measured to check if a pH value of 1 has been reached. After the 1st oxidation which occurs in less than 3 min, a pH value of 1 is reached immediately in the complexation compartments. The 2nd oxidation takes just a few seconds. The same SWV parameters as those used with the open cell were tested: $E_{\text{sw}}=25$ mV; $E_{\text{step}}=1$ mV with $f=250$ Hz and 2.5 Hz for the prototype (A) and only $f=250$ Hz for the prototype (B).

Sodium chloride solutions at 34.5 g L^{-1} were used as electrolyte for the prototype (A) and artificial seawater made with NaCl (30.36 g L^{-1}), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (6.74 g L^{-1}) and NaHCO_3 (0.16 g L^{-1}) for the prototype (B).

3.2.1. Prototype A: influence of diffusion on complexation time

In the prototype (A) (Fig. 1), the 2nd molybdenum electrode is located at the bottom of the second compartment (complexation and detection compartment), therefore the time to complex all phosphate ions will depend on the MoO_4^{2-} diffusion time in the cell until a homogenous solution is reached. The evolution of the square wave voltammograms recorded at $f=250$ Hz on gold electrode versus time after the 2nd molybdenum oxidation (named later as complexation waiting time) for $2.02 \mu\text{mol L}^{-1}$ of phosphate is presented on Fig. 4(A). The signal measured for the phosphomolybdic complex with the prototype (A) increases with complexation waiting time until reaching a maximum at around 50 min for the peak at 0.27 V and around 60 min for the peak at 0.12 V. The same results have been obtained at $f=2.5$ Hz (not shown). The peak at 0.27 V (Eq. (3)), the most anodic peak, is easily reduced and is also formed quicker than the peak at 0.12 V (Eq.

(4)) as it reaches its maximum signal faster than the most cathodic peak ($E=0.12$ V).

Compared to the potentials obtained with the open cell ($E=0.3$ V and $E=0.15$ V), the shift of potentials (slightly towards cathodic potential) observed for the two reduction peaks on Fig. 4 (A) ($E=0.27$ V and $E=0.12$ V) is due to the difference of chloride concentration used for the reference electrode (homemade reference electrode): 0.6 mol L^{-1} instead of 3 mol L^{-1} with the commercial Metrohm® electrode.

However, the shift in potential towards more cathodic potential observed on the peak at $E=0.12$ V with complexation waiting time indicates that the complex is harder to reduce with time. If the protonation pre-step is considered, the rate of this chemical coupled reaction becomes slower with time as the concentration of protons in solution decreases with time by loss of H^+ leaking through the Nafion® membrane and so the pH increases with time. The equilibrium of the protonation reaction is therefore less shifted unto protonated phosphomolybdic complex and the electron transfer is consequently harder.

Keeping in mind the influence of time, the variation of measured currents with time and with concentration of phosphates has been studied first at 250 Hz then at 2.5 Hz in order to find the optimal time and SWV parameters for the phosphate measurement.

3.2.2. Prototype A: calibrations at 250 Hz with time

The same square wave voltammograms have been recorded at 250 Hz and analysed for different concentrations of phosphate in the range between 0 and $4 \mu\text{mol L}^{-1}$ of PO_4^{3-} . The corresponding peak intensities (ΔI) measured are presented on Fig. 4 for the peak at 0.27 V (B) and for the peak at 0.12 V (C), respectively.

As previously observed with the open cell, at 250 Hz the signal obtained for peak at 0.27 V is not linear with phosphate concentration in the range from $0.1 \mu\text{mol L}^{-1}$ to $4.04 \mu\text{mol L}^{-1}$. After 70 and 80 min of complexation waiting time, a tendency to

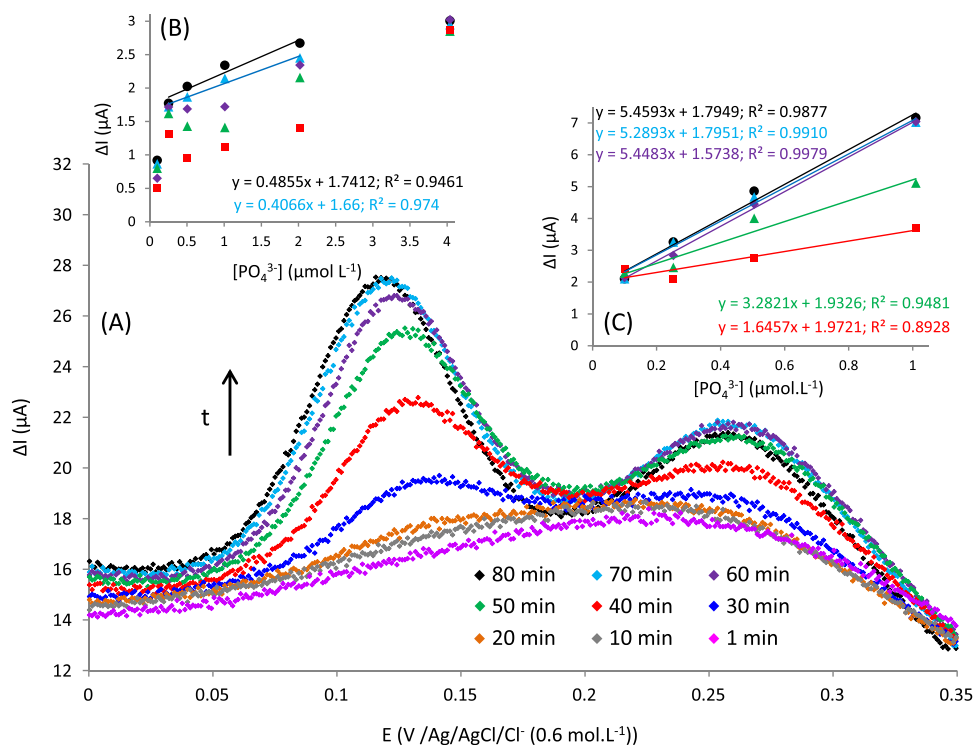


Fig. 4. (A) Evolution of square wave voltammograms as a function of complexation waiting time ($f=250$ Hz- $E_{\text{sw}}=25$ mV - $E_{\text{step}}=1$ mV - $\phi_{\text{Au}}=2$ mm) obtained in NaCl containing $2.02 \mu\text{mol L}^{-1}$ of PO_4^{3-} - Calibration curves ($\Delta I=f([\text{PO}_4^{3-}]$) for complexation waiting time of (■) 40 min, (▲) 50 min, (◆) 60 min, (▲) 70 min, (●) 80 min for peak at $E=0.27$ V (B) and for peak at $E=0.12$ V (C).

linearity is observed between 0.25 and 2.02 $\mu\text{mol L}^{-1}$ but with quite low regression coefficients (Fig. 4(B)).

For the peak at 0.12 V, the saturation of the current for concentration higher than 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (results not shown) takes place with the prototype (A) as in the open cell (Fig. 2(B)). Between 0.1 and 1.01 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of PO_4^{3-} linear regressions are obtained for each complexation waiting time on Fig. 4(C) but the best result in terms of regression coefficient is obtained after 60 min corresponding to the maximum signal obtained on Fig. 4(A). The limit of detection is 0.05 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and the limit of quantification is 0.1 $\mu\text{mol L}^{-1}$. Then, the regression coefficients decrease probably due to pH increasing with time (leakage through membrane) impacting the rate of electron transfer as well as the formation of the phosphomolybdic complex itself. Indeed the rate constants for the formation of $\beta\text{-[PMo}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$ decrease with pH [22]. The highest concentrations of phosphate are obviously more impacted (saturation above 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$) and also after 70 and 80 min the signal corresponding to 1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of PO_4^{3-} starts to be weaker than it should be explaining the decrease of regression coefficients for those calibration curves.

3.2.3. Prototype A: calibrations at 2.5 Hz with time

As previously for the open cell, the same experiments have been performed at 2.5 Hz in order to obtain a linear calibration on the whole range of concentrations. Both peak potentials have been analysed (0.27 and 0.12 V) from square wave voltammograms recorded each 10 min between 30 and 80 min after the 2nd oxidation of molybdenum giving time to homogenise the solution (diffusion of H^+ and MoO_4^{2-}), and to form and detect the phosphomolybdic complex (Fig. 5).

For the peak 0.27 V, contrary to results obtained with the open cell, excellent linear behaviours were obtained after 40 and 50 min complexation waiting time for the whole concentration range (0.25–4 $\mu\text{mol L}^{-1}$) with a limit of quantification of 0.25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Fig. 5(A)). The best regression coefficient is obtained after 40 min which is even before the maximum signal normally reached (50 min on Fig. 4(A)). After 50 and 60 min, the coefficients decrease and then the calibration curves are no longer linear.

At 40 min the solution is probably not completely homogenous, therefore not all the phosphate ions are complexed allowing to avoid the signal saturation. Also the loss of protons through the membrane is less over this short time, so the pH conditions are still favourable to form the same form of $\beta\text{-[PMo}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$ without decreasing too much the rate of reaction (in solution). Decreasing the frequency (from 250 Hz to 2.5 Hz) gave more time to the electron transfer to occur at the electrode surface and thus we were able to obtain a linear relationship between current intensities and PO_4^{3-} concentrations on the whole range.

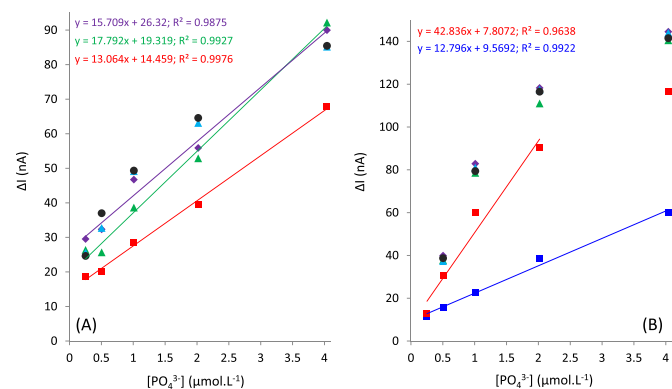


Fig. 5. Calibration curves from SWV at $f=2.5$ Hz ($\Delta I=f([\text{PO}_4^{3-}])$) for complexation waiting time of (■) 30 min, (■) 40 min, (▲) 50 min, (◆) 60 min, (▲) 70 min, (●) 80 min for peak at $E=0.27$ V (A) and for peak at $E=0.12$ V (B).

This phenomenon is even faster for the 2nd peak at 0.12 V (Fig. 5(B)). Indeed to obtain a linear calibration for the whole concentration range (0.25–4 $\mu\text{mol L}^{-1}$), the complex has to be detected after a short waiting time (30 min), way before reaching a homogenous solution, with a good regression coefficient. The signal maximum for this peak is obtained after 60 min (Fig. 4(A)). However, if the waiting time increases, the calibration is no longer linear for the whole concentration range at 40 min (only from 0.5 to 2 $\mu\text{mol L}^{-1}$) and even not linear at all after 50 min. The peak corresponding to 0.25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of phosphate after 50 min is not well defined on square wave voltammogram and cannot be measured. As expected, the limit of quantification increased from 0.1 $\mu\text{mol L}^{-1}$ at 250 Hz to 0.25 $\mu\text{mol L}^{-1}$ at 2.5 Hz.

Phosphate ions have been detected and quantified using the laboratory prototype (A) and two different frequencies depending on the concentration range being targeted: 250 Hz for smallest concentrations (0.1–1 $\mu\text{mol L}^{-1}$) and 2.5 Hz to cover the 0.25–4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ range. Of course both frequencies can and will be recorded sequentially for each analysed sample. Even if the reaction time with this prototype (A) is a bit long, the sensor can still be deployed and useful on moorings or deep sea observatories as no phosphate *in situ*, reagentless sensor exists so far on the market and it will provide time series of phosphate concentrations.

3.2.4. Prototype B: new design to decrease detection time

Now, in order to decrease homogenisation of the solution after molybdenum oxidations and consequently the complexation time, the design of the 2nd compartment of the prototype (A, Fig. 1) has been changed. On the prototype (B, Fig. 1) the 2nd molybdenum electrode (to form MoO_4^{2-} ions) with bigger surface as previously is now inserted on the side of the cell where the diffusion distances are reduced as compared to the prototype (A). Therefore, the gold and the silver electrodes are moved in another cell: the detection compartment (B2, Fig. 1).

The solution after complexation waiting time is therefore transferred from B1 to B2 using the solenoid pump injecting 50 μL of solution at each impulsion. The volume of the detection compartment is 91 μL , so a minimum of 2 pump impulsions are needed to fill the compartment. Experimental results showed that the best fraction to detect the phosphomolybdic complex is after 4 pump impulsions, corresponding to 200 μL transferred, then the signal starts to decrease (dilution of the sample). The results below will therefore show only the signals recorded for this fraction of 200 μL injected.

The phosphomolybdic complex is detected with this new prototype using the same SWV parameters as previously *i.e.* $E_{\text{SW}}=25$ mV, $E_{\text{step}}=1$ mV and $f=250$ Hz, and artificial seawater as electrolyte after only 5 min of complexation waiting time. The initial pH of the artificial seawater is around 7 instead of 4.5 for NaCl solutions, therefore the charges used for Molybdenum oxidations have been adjusted in order to reach the same $\text{H}^+/\text{MoO}_4^{2-}$ ratio of 70. No difference appears on the detection signal.

The corresponding calibration between 0.4 and 4 $\mu\text{mol L}^{-1}$ for both reduction peaks is presented on Fig. 6. Good linearity with correct regression coefficients are obtained for both peaks at this frequency on the whole concentration range. Saturation for higher concentrations of phosphate does not appear here like it was the case previously using $f=250$ Hz. Only a linear tendency was observed with the prototype (A) for the peak at $E=0.27$ V after 70 min of complexation waiting time. With this new prototype (B), a complexation waiting time of 5 min is enough to detect and measure the phosphomolybdic complex but the reaction of complexation is probably not complete which prevents the saturation of the signal. The short complexation waiting time prevents as well any variation of pH in the cell and so tends to stabilise the complex.

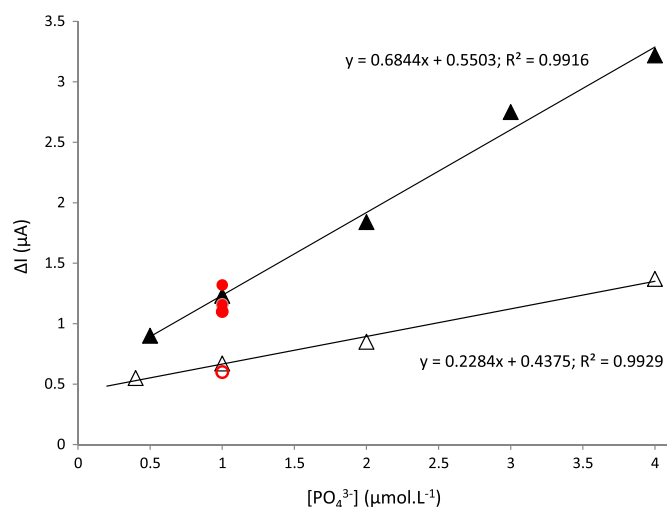


Fig. 6. Calibration curves from SWV at $f=250$ Hz ($\Delta I=f([PO_4^{3-}])$) for complexation waiting time of 5 min recorded in artificial seawater with prototype (B) for peak at $E=0.27$ V (\blacktriangle) and for peak at $E=0.15$ V (\blacktriangle) with regression – ΔI obtained for artificial seawater containing $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ of PO_4^{3-} and $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ of silicate ($Si(OH)_4$) in the same experimental conditions for peak at $E=0.27$ V (\circ) and for peak at $E=0.15$ V (\bullet).

In order to check the absence of silicate interference, artificial seawater containing $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ of phosphate and $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ of silicate has been recorded using the same experimental and electrochemical conditions. The results obtained are reported on the calibration curve on Fig. 6 (red dots). The same peak intensities are obtained for solution with and without silicate for both peaks proving the non-interference of silicate while measuring phosphate concentration.

This mechanical design of this prototype (B) is then validated and will be soon adapted for *in situ* measurements in seawater.

4. Conclusions

Square Wave Voltammetry has been tested and optimised in an advanced electrochemical cell for *in situ* detection of phosphates. Thanks to a special design of the electrochemical cell, the detection of phosphate is free from addition of any liquid reagents or silicate interference and can be fully automated for future autonomous oceanic application for phosphate detection in seawater. Results obtained using the open cell with membrane technology coupled with molybdenum oxidations were confirmed using our laboratory prototype sensors (small cell volume $< 400 \mu\text{L}$). The specific design and the placement of electrodes inside the prototype (A) require time for reagents (H^+ and MoO_4^{2-}), formed *in situ* by simple molybdenum oxidations, to diffuse in the cell and complex with phosphate ions.

Even if the stoichiometry of phosphomolybdic complexes formed as well as the mechanism of their reduction at the electrode surface are very complicated and still not fully elucidated yet, a good limit of quantification of $0.1 \mu\text{mol L}^{-1}$ (limit of detection $= 0.05 \mu\text{mol L}^{-1}$) has been obtained with the laboratory prototype (A) using 250 Hz frequency, after 60 min of complexation waiting time on the peak at $E=0.12$ V, with a linear behaviour from 0.1 to $1 \mu\text{mol L}^{-1}$ of PO_4^{3-} . In order to reach a larger concentration range *i.e.* 0.25 – $4 \mu\text{mol L}^{-1}$, the frequency of SWV has to be decreased down to 2.5 Hz. In this case, a linear regression is obtained after 40 min complexation waiting time for the current peak measured at 0.27 V and after 30 min for the peak at 0.12 V. The limit of detection is $0.1 \mu\text{mol L}^{-1}$ and limit of quantification is $0.25 \mu\text{mol L}^{-1}$ of phosphate for both peaks at this frequency.

Depending on the oceanographic area we study, the frequency can be adapted to target either the smallest phosphate concentration range or access a larger range. In any case, both frequencies will be measured for each sample. Considering the response time of the sensor, it will be deployed on moorings and deep sea observatories.

Preliminary results using a new design of electrochemical prototype (B) showed a faster reaction time as the position of the second molybdenum electrode allowed to decrease the diffusion time. With this new prototype (B), phosphate has been detected after only 5 min of complexation time in the concentration range between 0.5 and $4 \mu\text{mol L}^{-1}$ using $f=250$ Hz. The response time of prototype (B) will be consistent with ARGO floats application. Taking account the time to fill and rinse the whole circuit, several desynchronised phosphate sensors can be adapted as the size of the *in situ* sensor will be small enough, in order to increase the number of samples analysed on a profile with ARGO floats.

This new design (prototype (B)) will be soon adapted for the phosphate autonomous *in situ* electrochemical sensor. Future work actually in progress is to adapt the design of the laboratory prototype for *in situ* measurements able to resist to high pressure and also develop the electronics of the sensor particularly the Square Wave Voltammetry measurements.

Acknowledgements

Dr. Ivan Romanysia's contract and present work were supported by the SenseOCEAN project: Marine sensors for the 21st Century funded by the European Commission Seventh Framework Programme (FP7) under Grant Agreement no. 614141 (<http://www.senseocean.eu/>).

The authors would like to thank Marcel Belot from the Groupe d'Instrumentation Scientifique of the Observatory Midi-Pyrénées, Toulouse, France for the mechanical manufacturing and assistance.

References

- [1] J. Murphy, J.P. Riley, A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters, *Anal. Chim. Acta* 27 (1962) 31–36.
- [2] J.-Z. Zhang, C.J. Fischer, P.B. Ortner, Optimization of performance and minimization of silicate interference in continuous flow phosphate analysis, *Talanta* 49 (1999) 293–304.
- [3] E.A. Nagul, I.D. McKelvie, P. Worsfold, S.D. Kolev, The molybdenum blue reaction for the determination of orthophosphate revisited: opening the black box, *Anal. Chim. Acta* 890 (2015) 60–82.
- [4] P. Worsfold, I. McKelvie, P. Monbet, Determination of phosphorus in natural waters: a historical review, *Anal. Chim. Acta* 918 (2016) 8–20.
- [5] S.-C. Pai, C.-C. Yang, J.P. Riley, Effects of acidity and molybdate concentration on the kinetics of the formation of the phosphoantimonymolybdenum blue complex, *Anal. Chim. Acta* 229 (1990) 115–120.
- [6] P.R. Freeman, I.D. McKelvie, B.T. Hart, T.J. Cardwell, Flow-injection technique for the determination of low levels of phosphorus in natural waters, *Anal. Chim. Acta* 234 (1990) 409–416.
- [7] L. Drummond, W. Maher, Determination of phosphorus in aqueous solution via formation of the phosphoantimonymolybdenum blue complex. Re-examination of optimum conditions for the analysis of phosphate, *Anal. Chim. Acta* 302 (1995) 69–74.
- [8] E.A. Nagul, I.D. McKelvie, S.D. Kolev, The use of on-line UV photoreduction in the low analysis determination of dissolved reactive phosphate in natural waters, *Talanta* 133 (2015) 155–161.
- [9] S. Motomizu, M. Oshima, N. Katsumura, Fluorimetric determination of phosphate in sea water by flow injection analysis, *Anal. Sci. Technol.* 8 (1995) 843–848.
- [10] M. Kishida, T. Aoki, Determination of phosphate utilizing fluorescence reaction of thiamine with molybdovanadophosphate by flow injection analysis, *J. Flow Inject. Anal.* 15 (1998) 234–240.
- [11] C. Frank, F. Schroeder, R. Ebinghaus, W. Ruck, Using sequential injection analysis for fast determination of phosphate in coastal waters, *Talanta* 70 (2006) 513–517.
- [12] L. Kröckel, H. Lehmann, T. Wieduwilt, M.A. Schmidt, Fluorescence detection for phosphate monitoring using reverse injection analysis, *Talanta* 125 (2014)

- 107–113.
- [13] F.-E. Legiret, V.J. Sieben, E.M.S. Woodward, S.K. Abi Kaed Bey, M.C. Mowlem, D. P. Connelly, E.P. Achterberg, A high performance microfluidic analyser for phosphate measurements in marine waters using the vanadomolybdate method, *Talanta* 116 (2013) 382–387.
 - [14] I.D. McKelvie, D.M.W. Peat, G.P. Matthews, P.J. Worsfold, Elimination of the Schlieren effect in the determination of reactive phosphorus in estuarine waters by flow-injection analysis, *Anal. Chim. Acta* 351 (1997) 265–271.
 - [15] Y. Udnan, I.D. McKelvie, M.R. Grace, J. Jakmunee, K. Grudpan, Evaluation of on-line preconcentration and flow-injection amperometry for phosphate determination in fresh and marine waters, *Talanta* 66 (2005) 461–466.
 - [16] A.G. Fogg, N.K. Bsebsu, Flow injection voltammetric determination of phosphate: direct injection of phosphate into molybdate reagent, *Analyst* 107 (1982) 566–570.
 - [17] A.G. Fogg, N.K. Bsebsu, Sequential flow injection voltammetric determination of phosphate and nitrite by injection of reagents into a sample stream, *Analyst* 109 (1984) 19–21.
 - [18] S.M. Harden, W.K. Nonidez, Determination of orthophosphate by flow injection analysis with amperometric detection, *Anal. Chem.* 56 (1984) 2218–2223.
 - [19] A.G. Fogg, S.P. Scullion, T.E. Edmonds, B.J. Birch, Adaptation of on-line reactions developed for use with flow injection with amperometric detection for use in disposable sensor devices: reductive determination of phosphate as pre-formed 12-molybdophosphate in a capillary-fill device, *Analyst* 115 (1990) 1277–1281.
 - [20] Y. Bai, J. Tong, J. Wang, C. Bian, S. Xia, Electrochemical microsensor based on gold nanoparticles modified electrode for total phosphorus determinations in water, *IET Nanobiotechnol.* 8 (2014) 31–36.
 - [21] K. Maeda, S. Himeno, T. Osakai, A. Saito, T. Hori, A voltammetric study of Keggin-type heteropolymolybdate anions, *J. Electroanal. Chem.* 364 (1994) 149–154.
 - [22] N.G. Carpenter, A.W.E. Hodgson, D. Pletcher, Microelectrode procedures for the determination of silicate and phosphate in waters – fundamental studies, *Electroanalysis* 9 (1997) 1311–1317.
 - [23] A.W.E. Hodgson, D. Pletcher, Microelectrode procedures for the analysis of silicate and phosphate — towards practical procedures, *Electroanalysis* 10 (1998) 321–325.
 - [24] F. Wang, J. Tong, Y. Li, C. Bian, J. Sun, S. Xia, An electrochemical microsensor based on a AuNPs-modified microband array electrode for phosphate determination in fresh water samples, *Sensors* 14 (2014) 24472–24482.
 - [25] D. Talarico, F. Arduini, A. Amine, D. Moscone, G. Palleschi, Screen-printed electrode modified with carbon black nanoparticles for phosphate detection by measuring the electroactive phosphomolybdate complex, *Talanta* 141 (2015) 267–272.
 - [26] A.V. Kolliopoulos, D.K. Kampouris, C.E. Banks, Rapid and portable electrochemical quantification of phosphorus, *Anal. Chem.* 87 (2015) 4269–4274.
 - [27] A.G. Fogg, N.K. Bsebsu, B.J. Birch, Differential-pulse anodic voltammetric determination of phosphate, silicate, arsenate and germanate as β -heteropolymolybdates at a stationary glassy-carbon electrode, *Talanta* 28 (1981) 473–476.
 - [28] K. Matsunaga, I. Kudo, M. Yanada, K. Hasebe, Differential-pulse anodic voltammetric determination of dissolved and adsorbed phosphate in turbid natural waters, *Anal. Chim. Acta* 185 (1986) 355.
 - [29] J. Gonzalez, A. Molina, M. Lopez-Tenes, F. Karimian, Reversible surface two-electron transfer reactions in square wave voltammetry: application to the study of the reduction of polyoxometalate $[\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}]^{3-}$ immobilized at a boron doped diamond electrode, *Anal. Chem.* 85 (2013) 8764–8772.
 - [30] S. Cinti, D. Talarico, G. Palleschi, D. Moscone, F. Arduini, Novel reagentless paper-based screen-printed electrochemical sensor to detect phosphate, *Anal. Chim. Acta* 919 (2016) 78–84.
 - [31] M.M. Villalba, K.J. McKeegan, D.H. Vaughan, M.F. Cardosi, J. Davis, Bioelectroanalytical determination of phosphate: a review, *J. Mol. Catal. B: Enzym.* 59 (2009) 1–8.
 - [32] J. Jońca, F.V. León, D. Thouron, A. Paulmier, M. Graco, V. Garçon, Phosphate determination in seawater: toward an autonomous electrochemical method, *Talanta* 87 (2011) 161–167.
 - [33] J. Jońca, W. Giraud, C. Barus, M. Comtat, N. Striebig, D. Thouron, V. Garçon, Reagentless and silicate interference free electrochemical phosphate determination in seawater, *Electrochim. Acta* 88 (2013) 165–169.
 - [34] A. Bard, L.R. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications* Chapter 7, 2nd ed., John Wiley and Sons, 2001.
 - [35] L. Ramaley, M.S. Krause Jr., Theory of square wave voltammetry, *Anal. Chem.* 41 (1969) 1362–1365.
 - [36] J. Osteryoung, Voltammetry for the future, *Acc. Chem. Res.* 26 (1993) 77–83.
 - [37] J.G. Osteryoung, R.A. Osteryoung, Square wave voltammetry, *Anal. Chem.* 57 (1985) 101A–110A.
 - [38] C.C. Kircher, S.R. Crouch, Kinetics of the formation and decomposition of 12-molybdophosphate, *Anal. Chem.* 55 (1983) 242–248.
 - [39] J. Jońca, C. Barus, W. Giraud, D. Thouron, V. Garçon, Electrochemical behaviour of isopoly- and heteropolyoxomolybdates formed during anodic oxidation of molybdenum in seawater, *Int. J. Electrochem. Sci.* 7 (2012) 7325–7348.
 - [40] C. Rong, F.C. Anson, Spontaneous adsorption of heteropolytungstates and heteropolymolybdates on the surfaces of solid electrodes and the electrocatalytic activity of the adsorbed anions, *Inorg. Chim. Acta* 242 (1996) 11–16.
 - [41] B. Wang, S. Dong, Electrochemical study of isopoly- and heteropoly-oxometallates film modified microelectrodes-VI. Preparation and redox properties of 12-molybdophosphoric acid and 12-molybdosilicic acid modified carbon fiber microelectrodes, *Electrochim. Acta* 41 (1996) 895–902.
 - [42] S. Choi, J. Kim, Adsorption properties of Keggin-type polyoxometalates on carbon based electrode surface and their electrocatalytic activities, *Bull. Korean Chem. Soc.* 30 (2009) 810–816.



Silicate marine electrochemical sensor

D. Chen Legrand^a, S. Mas^b, B. Jugeau^c, A. David^c, C. Barus^{a,*}^a Laboratoire d'Etudes en Géophysique et Océanographie Spatiales UMR5566, CNRS, UPS, IRD, CNES, 18 avenue Edouard Belin, 31401, Toulouse Cedex 9, France^b MEDIMEER (Mediterranean Platform for Marine Ecosystems Experimental Research), OSU OREME, CNRS, Univ Montpellier, IRD, INRAE, 2 Rue des Chantiers, 34200, Sète, France^c NKE Instrumentation, Rue Gutenberg, Z.I. Kerandré, 56700, Hennebont, France

ARTICLE INFO

Keywords:

In situ silicate sensor
 Reagentless electrochemical detection
 Seawater deployment
 Validation with CRM
 Intercomparison with colorimetry

ABSTRACT

An autonomous electrochemical sensor suitable for *in situ* silicate detection and monitoring in marine environments, is presented without any use of liquid reagent. This paper shows silicate sensor characteristics and figures of merit using optimized chemical and electrochemical parameters. Under controlled laboratory conditions in a 40 L tank, good calibration between 1.63 and 132.8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ was obtained. The limit of detection and the limit of quantification obtained are respectively LOD = 0.32 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and LOQ = 1.08 $\mu\text{mol L}^{-1}$. No bias was found while analysing Certified Reference Material (CRM) solutions *i.e.* natural seawaters samples with different salinities and nutrients compositions. Repeatability test showed very good reproducibility of the measurement with low overall uncertainty, cumulating systematic error and reproducibility error, of 2.4 %. Accuracies obtained with the Silicate sensor are higher than 97.4 %, 95.3 % for the smallest concentration tested, under LOQ. Spike and recovery tests were conducted with two different CRM concentrations and showed 97.9–100.1 % recovery, indicating no matrix influence in the determination of silicate concentration using electrochemical sensor and its calibration process (realised with artificial seawater solutions). *In situ* deployment of silicate electrochemical sensor was realized in the Thau lagoon (Mediterranean Sea) at 1.6 m depth. A good agreement between the results obtained with the sensor compared to reference colorimetric measurements made at the Marine Station of Sète (France) validates sensor's performances.

1. Introduction

Silicate is one of essential nutrient used by certain types of phytoplankton to form their skeletal structure [1], such as diatoms who provide up to 45 % of the total oceanic primary production [2–7]. Lack of silicate in aquatic environments may limit biomass growth and affects the whole trophic levels. However, excessive silicate concentration can cause red tides due to phytoplankton bloom [8,9]. Silicate as the other nutrients *i.e.* phosphate and nitrate, are involved in carbon dioxide sequestration in the oceans [10–16] and their biogeochemical cycles are linked to the global carbon cycle and therefore contribute into climate regulation [17–19].

To efficiently monitor biogeochemical variables, to improve our understanding of their cycles and their impact on climate, and, considering the very high spatial and temporal variability found in Open Ocean, *in situ*, autonomous sensors are the only sustainable solution

[20].

The common method to measure nutrients concentration is visible-spectrophotometry requiring liquid reagents [21–25]. Lab-on-chip *in situ* nutrient sensors based on colorimetric measurements have been successfully deployed in marine environments to detect nitrate and nitrite [26], phosphate [27,28]. The silicate *in situ* sensor developed by Cao et al. [29] shows satisfactory results with a detection limit of 45.1 nmol L⁻¹ for a 300 s sensor response time. They deployed their sensor in routine and recorded high precision and robustness *in situ* data [29]. Although, the use of liquid reagents is an issue for long term monitoring, not to mention stability issues for some reagents, especially the ascorbic acid used for silicate determination [30]. Furthermore, colorimetric methods suffer from interferences and refractive index effects [31].

For these reasons, our group worked and proposed a reagentless method to monitor nutrients concentration in seawater using

Abbreviations: SD, standard deviation; RSD, relative standard deviation; CRM, certified reference material; LOD, limit of detection; LOQ, limit of quantification; PEEK, polyether ether ketone.

* Corresponding author.

E-mail address: carole.barus@legos.obs-mip.fr (C. Barus).

<https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.129705>

Received 2 November 2020; Received in revised form 17 February 2021; Accepted 20 February 2021

Available online 25 February 2021

0925-4005/© 2021 The Authors.

Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Table 1

CRM composition, only silicate concentrations are indicated but samples contain phosphate, nitrate and nitrite. The complete composition is available at “http://www.kanso.co.jp/eng/production/available_lots.html”.

	Certified value \pm SD ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	Expanded uncertainty ($\mu\text{mol kg}^{-1}$)	Salinity (psu)	Density	[Si] _{CRM_ref} ($\mu\text{mol L}^{-1}$)
Lot. CK*	0.73 ± 0.006	0.08	35.211	1.0249	0.75
Lot. CL	13.8 ± 0.012	0.3	34.685	1.0245	14.1
Lot. CC	86.16 ± 0.052	0.48	34.338	1.0243	88.25
Lot. CB	109.2 ± 0.052	0.62	34.374	1.0243	111.9

* KANSO note: value for Silicate is below quantifiable detection limit, thus use this value as a guide.



Fig. 1. Silicate *in situ* sensor (left) and stainless steel cage implemented with the silicate sensor and its battery pack (right) ready for deployment.

electrochemistry [32–38]. Silicate is a non-electroactive specie and its determination is performed by measuring its corresponding silicomolybdic complex formed *in situ* at acidic pH after a simple oxidation of a molybdenum solid electrode while the counter electrode is isolated behind a Nafion® membrane [33,34]. Electrochemical detection of the silicomolybdic complex is selective, do not suffer from any interference and allows to considerably reduce the size of sensor. It is also compatible with long period of deployment as no liquid reagents bag is required, on the contrary of colorimetric methods.

Our reagentless silicate sensor has been successfully deployed for the first time in the upwelling of the central-northern zone of Chile and data collected were in good agreement with physical data recorded as well with a reference sample analysed by colorimetry [39]. In this paper, a complete characterisation of silicate sensor is presented including validation using Certified Reference Materials (CRM KANSO CO., LTD., Osaka, Japan). A rigorous intercomparison between our silicate sensor and colorimetry has been performed for the first time during a deployment in the Thau lagoon (Mediterranean Sea) at Sète Marine Station (France), where two water samples per day were analysed.

2. Experimental

2.1. Chemicals and materials

All solutions were prepared in Milli-Q water (Millipore Milli-Q water system). One litre of artificial seawater was made with a mix of 32.74 g sodium chloride (NaCl, VWR), 7.26 g magnesium sulphate heptahydrate ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, VWR) and 0.172 g sodium hydrogenocarbonate (NaHCO_3 , VWR) (adapted from [40]). Polymethylpentene or polypropylene containers were used instead of glass to avoid silicon contamination. Silicate solutions were prepared with certified standard solution from Sigma-Aldrich at $1003 \pm 5 \text{ mg L}^{-1}$ as SiO_2 , corresponding to $16693 \pm 83 \mu\text{mol L}^{-1}$, diluted into artificial seawater electrolyte at $\text{pH} \approx 7$ and salinity closed to 35 psu. Four different Certified Reference Material (CRM) supplied by KANSO CO., LTD, Japan were used to validate the sensor: Lot. CK (Issue no.: 2019-00170), Lot. CL (Issue no.: 2019-00171), Lot. CC (Issue no.: 2019-00169) and Lot. CB (Issue no.: 2019-00168). Respective silicate compositions as well as salinities are described in Table 1. Sulfuric acid at 98 % supplied by Merck has been used to activate electroactive surface of gold electrodes. Molybdenum plate, silver, gold and platinum rods and titanium grid used to build sensor electrodes were purchased from GoodFellow.

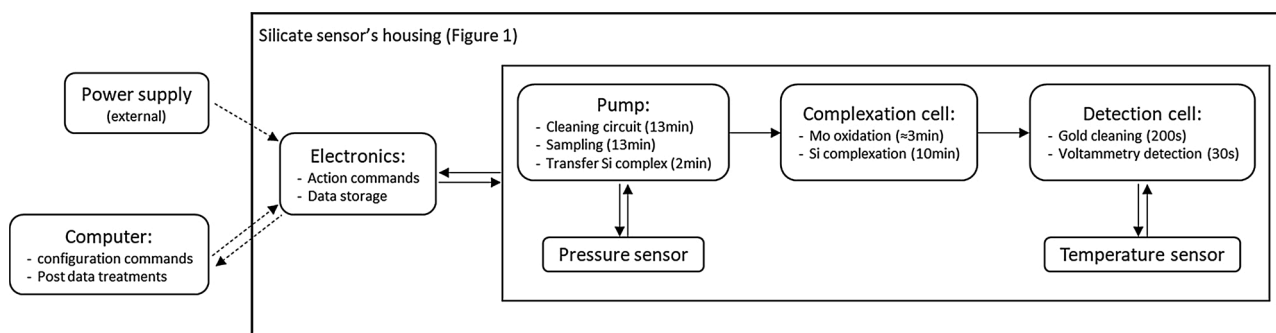
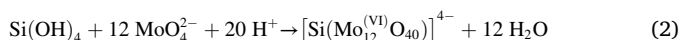


Fig. 2. Functioning procedure of the Silicate sensor.

2.2. Silicate sensor: description and process

In situ silicate sensor previously described in [39] and presented in left on Fig. 1 is an anodized aluminium cylinder of 9 cm diameter and 25 cm long with a weight of 2.2 kg in air without the battery pack (external, shown in right on Fig. 1). The housing has been validated up to 60 bars (600 m depth). A solenoid pump from Lee-Company, placed into dielectric oil filled reservoir equipped with a membrane (Fig. 1, left) avoiding pressure constraint, is used to sample and clean the whole circuit.

On the top of the sensor, opposite to the connector (Fig. 1, left), the electrochemical cells (with the electrodes) include a complexation cell of 376 μL and a detection cell of 94 μL . These technical parts of the sensor are designed in PEEK (polyether ether ketone). Silicates not being electroactive, there are firstly complexed with molybdates at acidic pH in the complexation cell using molybdenum electrode. After molybdenum oxidation (Eq. (1)) to form *in situ* the needed reagents and optimised complexation time around 10 min, the silicomolybdic complex ($\text{Si}(\text{Mo}_{12}\text{O}_{40})^{4-}$) formed (Eq. (2)) is transferred into the detection cell using the pump and detected by cyclic voltammetry in between 0.0 and 0.5 V/ref using a scan rate of 100 mV s^{-1} . Cyclic voltammograms show two reversible peaks corresponding to the reduction of the complex in two steps observed at 0.32 V and 0.25 V/ref respectively [39]. In this potential window (0.0 and 0.5 V/ref), at the pH ≈ 1.5 obtained, only silicomolybdate is detected, showing good selectivity of our silicate electrochemical sensor.



A conventional three-electrode system is used in both cells, where molybdenum plate ($S = 118 \text{ mm}^2$) and gold disc ($\varphi = 2 \text{ mm}$) are used as working electrodes in complexation cell and detection cell respectively. Before first use, gold electrode is polished with aluminium oxide (0.3 μm diameter, PRESI), then electrochemically cleaned in 0.5 mol L^{-1} sulphuric acid with classical cleaning protocol [39]. Silver wire ($\varphi = 1 \text{ mm}$, $l = 25 \text{ mm}$) and silver disc ($\varphi = 2 \text{ mm}$), used as reference electrodes, are covered with silver chloride layer using PGSTAT 128 N potentiostat supplied by Metrohm. All the potentials are expressed *versus* $\text{Ag}/\text{AgCl}/\text{Cl}^-$ (0.6 mol L^{-1}), written as V/ref. In the complexation cell, the counter electrode (*i.e.* titanium grid ($\varphi = 25 \text{ mm}$)) is isolated from the sample behind a 180 μm Nafion® membrane (N117 Du Pont™ Nafion® PFSA Membrane) in order to reach the acidic pH needed (pH ≈ 1.5) for Eq. (2), thus avoiding H^+ reduction at counter electrode's surface [33,39]. A platinum disc ($\varphi = 2 \text{ mm}$) is used as counter electrode in the detection cell.

The electronics, placed into a dry compartment, controls the whole analytical procedure schematized in the Fig. 2, including the pump action to clean the circuit (13 min), to sample (13 min) and transfer seawater (2 min), the electrochemical cleaning of the gold electrode

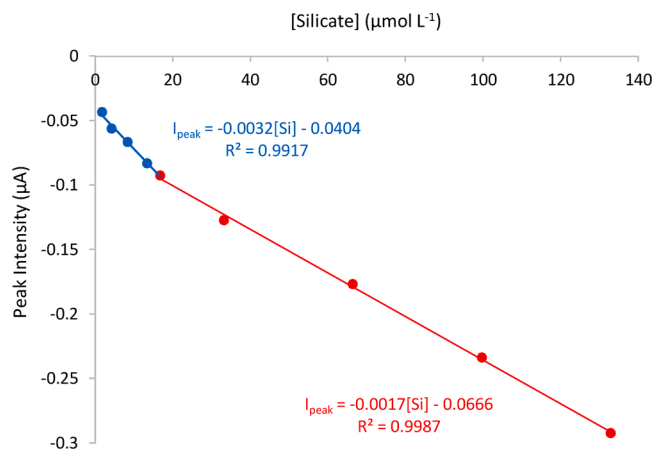


Fig. 3. Sensor calibration at room temperature between 1.63–132.8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of silicate standards in artificial seawater.

(polarized at -0.2 V/ref during 200 s), the oxidation of Molybdenum (around 3 min) and the silicomolybdic complex detection by cyclic voltammetry (30 s) after a complexation time (10 min). The whole procedure takes around 45 min. The device is also equipped with pressure and temperature sensors. Pressure is measured at the beginning and the end of the water sampling while temperature is monitored during the silicomolybdic complex detection.

2.3. *In situ* experiment

Silicate sensor has been deployed at 1.6 m depth in the Thau lagoon (Mediterranean Sea) at the Sète Marine Station (France), attached together with its battery pack, to an stainless steel cage (Fig. 1, right). The sensor recorded silicomolybdic signal every 45 min between the 8th and the 12th of July 2019.

During deployment period, 8 water samples have been taken and analysed by colorimetric method at the Sète Marine Station laboratory. Each sample has been analysed twice, the corresponding average and standard deviation are showed on the following results section. To determine silicate concentrations, two 13 mL aliquots were filtered on 3 times pre-washed PP 0.45 μm filters (25 mm, Agilent Technologies), stored at -20°C until analysis and then analysed using a Continuous Flow Analyzer (SAN++, SKALAR) following the standard photometric analysis method [41]. This method is based on the following reaction: the sample is acidified and mixed with an ammonium heptamolybdate solution forming molybdosilicic acid. This acid is reduced with L(+)-ascorbic acid to a blue dye, which is measured at 810 nm.

3. Results and discussion

3.1. Silicate sensor characterisation

3.1.1. Calibration and standards analyses

Calibration curve of the sensor (Fig. 3) corresponds to the concentration of silicate standards dissolved in artificial seawater plotted *versus* the peak intensity measured at $E = 0.32$ V/ref on cyclic voltammograms recorded at room temperature by the sensor after Molybdenum oxidation and silicomolybdc complex formation.

The range of silicate concentration in the open ocean goes between few nanomolar in surface waters up to $140 \mu\text{mol L}^{-1}$ at depths with very high regional and seasonal variability [42–44]. The targeted range chosen is $1.63\text{--}132.8 \mu\text{mol L}^{-1}$ and shows two linear behaviours with silicate concentration on Fig. 3.

Calibration's slope changings have also been observed in the literature, as well as saturation of the signal at higher silicate or phosphate concentrations, using electroanalytical [37,45–48] or colorimetric detections [29,49].

The formation of heteropolyoxomolybdates and also its reduction are strongly dependent with experimental conditions especially the proton concentrations, molybdates forms and concentrations and also silicate (or phosphate) concentrations [37,50–56]. Several types of complexes can be formed as well as polymeric structures at high concentrations [32,33,48].

B. Wang and S. Dong showed that central atom (silicium) in the Keggin structure has non-negligible influence on electrode reactions of the silicomolybdc complex [57]. They reported a diffusion-controlled process at high silicate concentrations whereas the signals obtained with low silicate concentrations are mainly due to the adsorbed monolayer. Carpenter et al., also demonstrated that the electron transfer is not completely mass transport controlled and a probable protonation reaction occurs before the heteropolyoxomolybdate reduction that slows down the electron transfer [58].

The mechanism of its reduction is therefore very complicated and not all the authors agreed on the number of electrons exchanged. Carpenter et al. [58], Lacombe et al. [32,33], claimed that 2 then 3 electrons are exchanged whereas [57,59–62] agreed on 2 electrons processes.

We can conclude that at higher silicate concentrations, both diffusion and electron transfer rates are probably affected and slowed down due to the formation of higher valence structures or higher steric hindrance heteropolyoxomolybdates explaining the decrease in the calibration slope observed. In any cases, depending on the electrochemical signal measured by the sensor, the appropriate calibration will be used in order to determine the corresponding *in situ* silicate concentration.

In order to determine the limit of detection (LOD) and the limit of quantification (LOQ), a low silicate concentration was analysed 26 times. One value has been discarded by Dixon test [63]. The sample mean (\bar{x}) of silicate concentration obtained and its corresponding standard deviation (SD) are: $[\text{Si}]_{\text{low}} = 1.93 \pm 0.11 \mu\text{mol L}^{-1}$.

From this result, the limit of detection defined as 3 times the SD and the limit of quantification as 10 times the SD, are deducted:

$$\text{LOD} = 0.32 \mu\text{mol L}^{-1}.$$

$$\text{LOQ} = 1.08 \mu\text{mol L}^{-1}.$$

If the silicate concentration analysed was appropriated to estimate the LOD, the compliance ratio R should be between 4 and 10.

In our case, we obtained a ratio: $R = \frac{[\text{Si}]_{\text{low}}}{3 \times \text{SD}} = 6$, validating the method used.

3.1.2. Certified reference material analyses

In order to evaluate the accuracy and the precision of the sensor, 4 Certified Reference Material (CRM) supplied by KANSO were analysed. CRM are produced using treated natural seawater on the basis of quality

Table 2

Certified Reference Material (CRM) analysis using silicate sensor.

	$[\text{Si}]_{\text{CRM,anal}} \pm \text{SD}^*$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$) (RSD (%))	Bias Assessment $t_{(95\%)} \cdot \text{SD} / \sqrt{N} /$ $ [\text{Si}]_{\text{CRM,anal}} - [\text{Si}]_{\text{CRM,ref}} $	Overall uncertainty	Accuracy
Lot. CK	0.78 ± 0.01 (1.7 %)	$0.12 > 0.04$	8.3%	95.3 %
Lot. CL	14.05 ± 0.13 (0.9 %)	$0.05 < 0.09$	2.4 %	99.4 %
Lot. CC	86.00 ± 0.67 (0.8 %)	$5.98 > 2.25$	4.1%	97.4 %
Lot. CB	111.95 ± 0.24 (0.2 %)	$2.17 > 0.09$	0.5%	99.9 %

* SD: 2 measurements were used to determine the standard deviations except for the lot. CL where 31 measurements were analysed.

control system under ISO 17034 (JIS Q 17034) [64,65]. The certified values represent the average of 30 bottles analysed by colorimetric method. Following ISO Guide 35 (JIS Q 0035) guideline, standard deviations are calculated based in the results of 180 bottles measured in duplicate. Reference concentrations ($[\text{Si}]_{\text{CRM,ref}}$), expanded uncertainty, salinity and density gave by the supplier KANSO are indicated in the Table 1.

Each lot has been analysed by the silicate sensor in duplicate, except the lot. CL where 31 measurements have been realised to evaluate the repeatability of the sensor. The silicate concentrations were determined using the appropriate calibration above. The average of the silicate concentration obtained using the sensor ($[\text{Si}]_{\text{CRM,anal}}$), their respective standard deviations (SD) and relative standard deviations (RSD) are indicated in the Table 2, together with bias assessment, overall uncertainty and accuracy.

The overall uncertainty (Eq. 3) cumulates systematic error (bias) and reproducibility error (SD).

$$\text{Overall uncertainty} = \frac{|[\text{Si}]_{\text{CRM,anal}} - [\text{Si}]_{\text{CRM,ref}}| + 2 \cdot \text{SD}}{[\text{Si}]_{\text{CRM,ref}}} (\%) \quad (3)$$

where $[\text{Si}]_{\text{CRM,anal}}$ and $[\text{Si}]_{\text{CRM,ref}}$ represent respectively the mean of silicate concentration analysed by the sensor and the reference value of the CRM gave by the supplier KANSO found in Table 1.

The accuracy (Eq. 4) is defined by [100 - Relative error (%)]:

$$\text{Accuracy} = 100 - \frac{|[\text{Si}]_{\text{CRM,anal}} - [\text{Si}]_{\text{CRM,ref}}|}{[\text{Si}]_{\text{CRM,ref}}} (\%) \quad (4)$$

No bias exists between the mean of Silicate concentration measured by the sensor ($[\text{Si}]_{\text{CRM,anal}}$) and the reference value of the CRM ($[\text{Si}]_{\text{CRM,ref}}$) if the term ($t_{(95\%)} \cdot \text{SD} / \sqrt{N}$) is higher than ($|[\text{Si}]_{\text{CRM,anal}} - [\text{Si}]_{\text{CRM,ref}}|$) value. $t_{(95\%)}$ corresponds to the Student's t-distribution value for a 95 % confidence interval and N the number of measurements. As shown on Table 2, there is no bias for CK, CC and CB. A bias is detected for CL due to high number of measurements, however SD, RSD, as well as the overall uncertainty for CL are very low.

Very good overall uncertainties and accuracies have been obtained for the 4 CRM tested with our sensor. Higher overall uncertainty is observed for the lot. CK but considering the quite low silicate concentration measured, even under limit of quantification, this result is acceptable.

The repeatability test conducted with CL allows to determine the population mean (μ) (or true mean) for this CRM. Considering a t-Student distribution, the 95 % and 99 % confidence intervals of the true mean are:

$$\text{Confidence interval (95 \%): } 14.00 \mu\text{mol L}^{-1} < [\text{Si}]_{\text{CRM,CL,true mean,95 \%}} < 14.10 \mu\text{mol L}^{-1},$$

Table 3
Recovery results.

	$[\text{Si}]_{\text{added}} (\mu\text{mol L}^{-1})$	$[\text{Si}]_{\text{Total}} \pm \text{SD}^* (\mu\text{mol L}^{-1}) (\text{RSD}\%)$	% Recovery
Lot. CK	6.68	$7.47 \pm 0.24 (3 \%)$	100.1 %
	13.35	$14.10 \pm 0.31 (2 \%)$	99.7 %
Lot. CC	20.70	$104.37 \pm 0.81 (1 \%)$	97.9 %
	41.40	$126.15 \pm 0.88 (1 \%)$	99.2 %

Confidence interval (99 %): $13.99 \mu\text{mol L}^{-1} < [\text{Si}]_{\text{CRM_CL_true mean_99 \%}} < 14.11 \mu\text{mol L}^{-1}$,

in good agreement with the reference value $[\text{Si}]_{\text{CRM_CL_ref}} = 14.1 \pm 0.3$ (expanded uncertainty) $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Table 1).

3.1.3. Recovery tests

To evaluate the degree of influence from the matrix (composition of seawater), recovery tests have been performed with CK and CC CRM solutions. From the CRM solution, a known quantity ($[\text{Si}]_{\text{added}}$) of the commercial SiO_2 standard solution (at $16693 \mu\text{mol L}^{-1}$) is added. Each CRM and each spiked sample ($[\text{Si}]_{\text{Total}}$) were analysed by the sensor twice. The corresponding silicate concentrations were determined using the previous calibration. Results obtained are shown in Table 3.

The percentage of recovery is defined by Eq. (5):

$$\% \text{ recovery} = \frac{[\text{Si}]_{\text{Total}}}{[\text{Si}]_{\text{CRM_anal}} + [\text{Si}]_{\text{added}}} \quad (5)$$

where $[\text{Si}]_{\text{Total}}$ is the mean of silicate concentrations measured by the sensor on the spiked samples. $[\text{Si}]_{\text{CRM_anal}}$ corresponds to the mean of

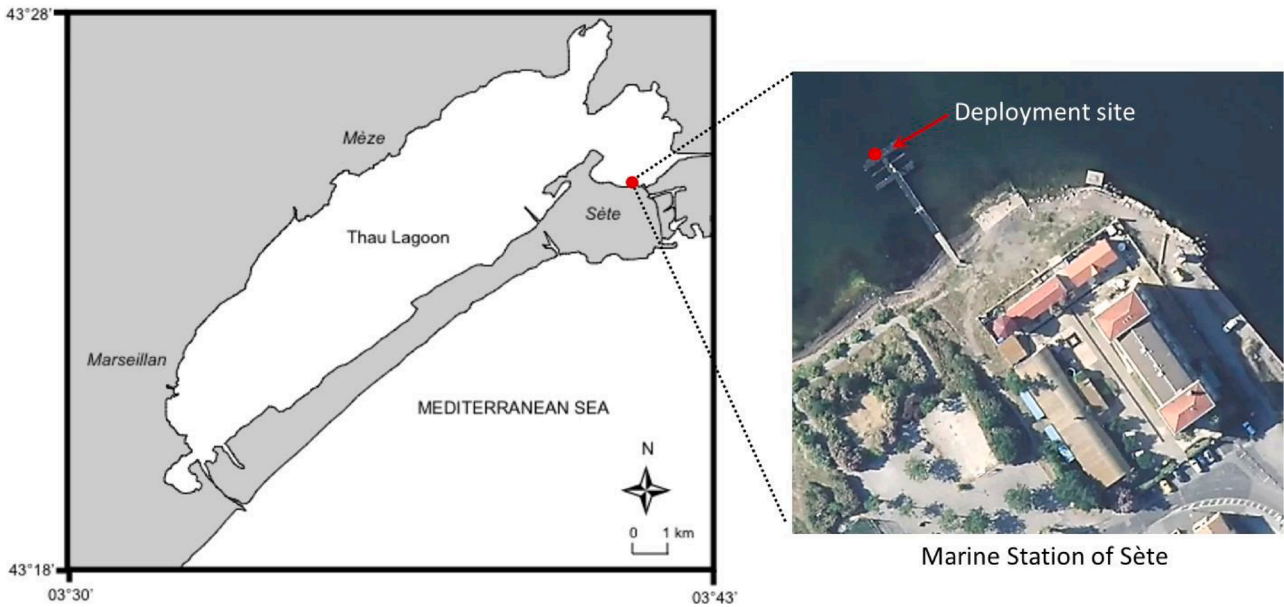


Fig. 4. Locations of Sète Marine Station and the deployment area of silicate sensor (at the end of Station pontoon, ●).

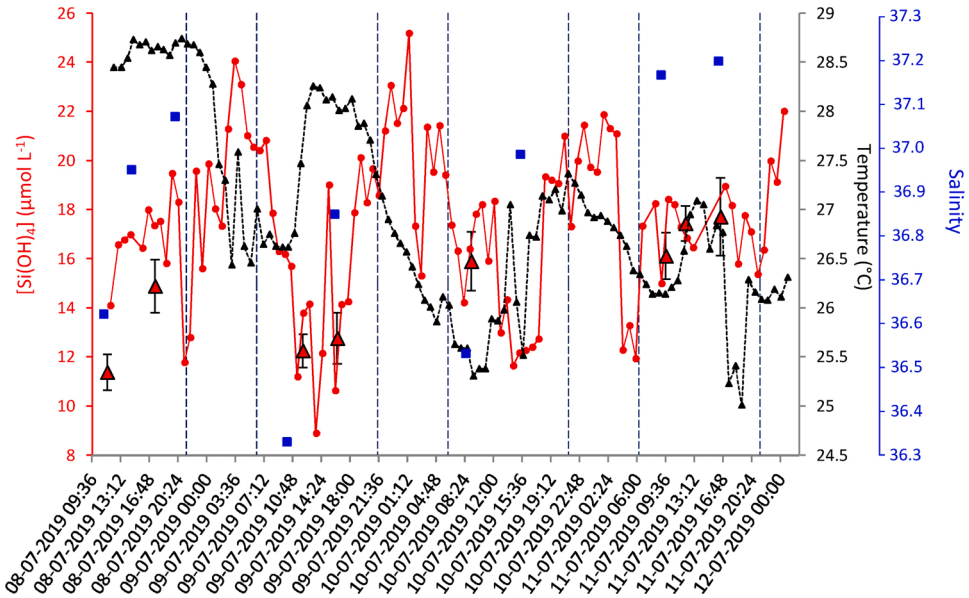


Fig. 5. Time (UTC + 2) evolution of silicate concentration (●) and temperature (▲) measured by the *in situ* sensor at 1.6 m depth in Thau lagoon (Mediterranean Sea) and of reference colorimetric measurements (▲) and (■) salinity measured on discrete samples.

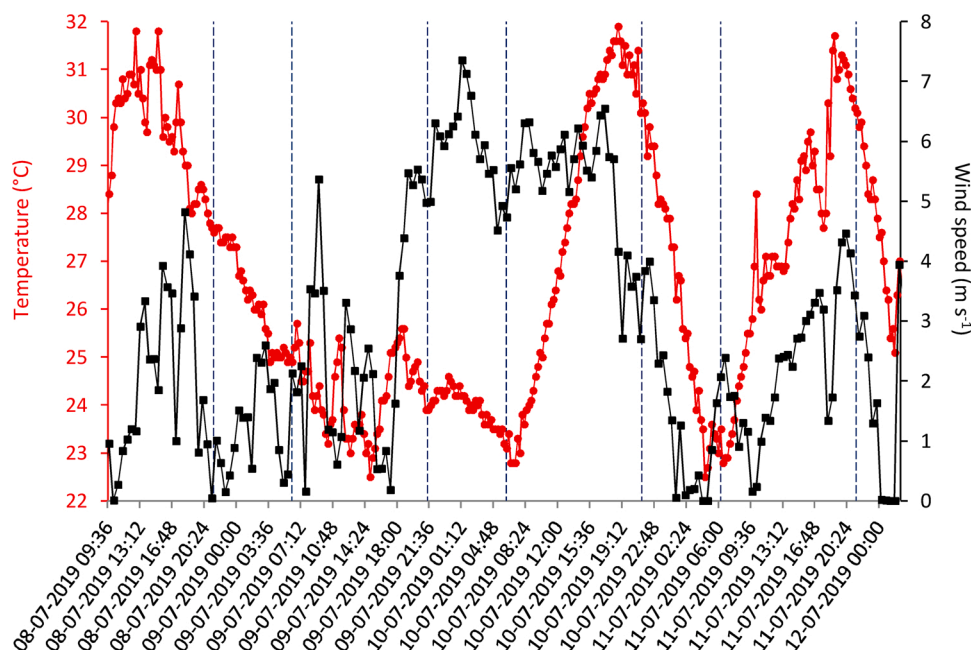


Fig. 6. Time (UTC + 2) evolution of air temperature (●) and half-hourly mean value of surface wind speed (■) measure on the pontoon of Marine Station during deployment period.

silicate concentrations measured by the sensor in CRM solutions ($[Si]_{CRM,anal}$ found on Table 2) corrected with dilution factor due to the standard additions of SiO_2 . The volume added is however considered small enough to neglect matrix's dilution.

Very good recovery values, from 97.9 to 100.1%, have been obtained (Table 3) at both low (CK: $0.75 \mu mol L^{-1}$) and high (CC: $88.25 \mu mol L^{-1}$) concentrations, indicating no matrix influence in the determination of silicate concentration with our electrochemical sensor and its calibration process.

3.2. In situ validation

The silicate sensor has been deployed in Thau lagoon (Mediterranean Sea) from a pontoon of the Marine Station of Sète (France) between the 8th and the 12th of July 2019 at 1.6 m depth (Fig. 4). The Thau lagoon is located in the south of France, connected to the sea by the canal of Sète. The Thau lagoon is a shallow coastal lagoon (4 m average depth) located in the North Western Mediterranean shore ($43^{\circ}24'00''$ N, $3^{\circ}36'00''$ E) and connected to the Mediterranean Sea through three narrow channels. The study site is characterized by a large water temperature and salinity seasonal fluctuation (from about 4 – $29^{\circ}C$ and 28.5 – 40 psu respectively, [66]) and strongly affected by meteorological conditions bringing high nutrients variability [67]. Nutrients discharges and significant increases of primary production are observed during river flood events [68]. Tidal range is lower than 1 m, therefore the wind, playing an important role in the hydrodynamics [69], and temperature represent the main vectors of vertical mixing in the lagoon. During summer (July, August), high water temperature (around $30^{\circ}C$), high salinity (above 38 psu) and low wind velocity (under $5 m s^{-1}$) are observed that lead to oxygen depletion in bottom waters (anoxia). In anoxic conditions, silicate concentration range varies from few micromolar to around $50 \mu mol L^{-1}$ [70,71].

The sensor worked continuously and analysed a sample every 45 min. Electrochemical signals recorded by the sensor have been translated into concentrations using the calibration made with standards diluted in artificial seawater prior deployment. The time series obtained with the sensor are showed in red on the Fig. 5, together with the *in situ* temperature measured by the sensor in black on Fig. 5. Red triangles represent the silicate concentrations of the 8 discrete samples, taken at the same depth of the sensor, measured by colorimetric detection at the

Marine Station, using the molybdenum blue method. The salinity of the discrete samples is measured by conductivity/salinity sensor (EC300 Model, VWR) and indicated in blue. The air temperature and wind speed during the period of deployment are determined with temperature probe (HMP45C Model, Campbell Scientific) and wind monitor (05103-L Model, Campbell Scientific) respectively, fixed on pontoon of Marine Station. These data are indicated on the Fig. 6. Vertical dotted lines indicate sunsets and sunrises delimiting days and nights.

During the four days of deployment, 102 data have been recorded by the sensor. The silicate concentration ranged from 8.90 to $25.19 \mu mol L^{-1}$ and *in situ* temperature at 1.6 m depth varied from 25.01 to $28.74^{\circ}C$. The sensor needed 13 min to sample seawater. Therefore, the data for silicate concentration on Fig. 5 are plotted against the mean of the local sampling time (UTC + 2). However, the time for colorimetric measurements is the actual, instant time of the seawater sampling.

Through the deployment period, a good correlation was obtained between the sensor data and the reference colorimetric measurements realised at the Marine Station of Sète, indicating the sensor has not drifted after these four days of measurement. Only the first value recorded by the sensor seems far from the colorimetric analysis of the first discrete sample (Fig. 5), however, there are 30 min differences between the discrete sampling and the beginning of the sensor sampling. Also, the silicate concentration as well as the salinity were increasing, so the result obtained is rather consistent.

Nights and days insights show higher silicate concentrations during the night than during the daytime that has been previously observed by Throuzeau et al. [72]. During day light, within the upper of euphotic zone, silicate is consumed by phytoplankton for their growth explaining the decrease of silicate concentration observed in surface waters.

During night, the increase of silicate concentration can be explained by vertical mixing inducing silicate release in suspension from the sediment due to the wind (night of 9th–10th July) and also to the stratification linked to the decrease of both sea surface temperature and air temperature at nights (night of 8th–9th and night of 10th–11th July to a lesser extent) (Figs. 5 and 6). The maxima of silicate concentration at $25.19 \mu mol L^{-1}$ (Fig. 5) in the night between the 9th and the 10th of July was indeed correlated to a stronger wind (wind speed increased) recorded by Campbell Scientific wind monitor as shown on the Fig. 6.

Remineralisation or regeneration of silicate in the water column can

also participate to the increase of silicate concentration in dark conditions.

4. Conclusion

An electrochemical *in situ*, reagentless, sensor has been designed to detect silicate concentration in marine environments. Silicate calibration between 1.63 and 132.8 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of SiO_2 standard solutions has been performed in artificial seawater. Limit of detection of 0.32 $\mu\text{mol L}^{-1}$ and limit of quantification of 1.08 $\mu\text{mol L}^{-1}$ were determined. The sensor showed no bias while analyzing Certified Reference Material solutions and good reproducibility and recovery have been obtained. *In situ* deployment in the Mediterranean Sea (Thau lagoon) gave accurate results in comparison with reference colorimetric measurements. Our sensor proved it is ready to be used in routine for *in situ* silicate concentration monitoring in the global ocean.

In order to decrease the response time of our sensor and drastically improve the performances in terms of measurement frequency, a new sampling system is currently under study and should be used in the next sensor generation.

Funding

This work is part of the OCEANSensor project supported by the European Union's Horizon 2020 research and innovation programme under grant agreement No. 728053-MarTERA and funding by the French "Agence Nationale de la Recherche".

CRedit authorship contribution statement

Dr. Dancheng Chen Legrand as part of the OCEANSensor project, carried out the investigation, formal analysis and validation. She wrote the original draft.

Dr. Sébastien Mas was involved in investigation and resources (laboratory samples and analyses). He participated in the writing-review of this article.

Benoit Jugeau developed and provided instrumentation resources.

Dr. Arnaud David provided and supervised instrumentation and electronic resources. He participated in reviewing the article.

Dr. Carole Barus, project administrator of this work, was in charge of supervision, investigation and participated to formal analysis and data validation. She managed the writing-review & editing of the published work.

Declaration of Competing Interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

The authors would like to thank Florian Voron and David Parin of the Sète Marine Station for their help in order to deploy the Silicate sensor, to collect and analyse the discrete samples.

References

- [1] W.E.G. Atkins, Seasonal changes in the silica content of natural waters in relation to the phytoplankton, *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* 14 (1926) 89–99.
- [2] D.J. DeMaster, The supply and accumulation of silica in the marine environment, *Geochim. Cosmochim. Acta* 45 (1981) 1715–1732.
- [3] P. Tréguer, D.M. Nelson, A.J. Van Bennekom, D.J. DeMaster, A. Leynaert, B. Quéguiner, The silica balance in the world ocean: a reestimate, *Science* 268 (1995) 375–379, <https://doi.org/10.1126/science.268.5209.375>.
- [4] D.G. Mann, The species concept in diatoms, *Phycologia* 38 (1999) 437–495, <https://doi.org/10.2216/i0031-8884-38-6-437.1>.
- [5] A. Yool, T. Tyrrell, Role of diatoms in regulating the ocean's silicon cycle, *Glob. Biogeochem. Cycles* 17 (2003) 1103–1124, <https://doi.org/10.1029/2002GB002018>.
- [6] P.J. Tréguer, C.L. De La Rocha, The world ocean silica cycle, *Annu. Rev. Mar. Sci.* 5 (2013) 477–501, <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-121211-172346>.
- [7] L.A. Bristow, W. Mohr, S. Ahmerkamp, M.M.M. Kuypers, Nutrients that limit growth in the ocean, *Curr. Biol.* 27 (2017) R474–R478.
- [8] D.-F. Yang, Z.-J. Yu, K. Zhang, M. Li, D.-Y. Jiang, The limitation of nutrient silicon for phytoplankton growth in the global marine areas, *Marin. Environ. Sci.* 27 (2008) 547–553.
- [9] S.B. Bricker, B. Longstaff, W. Dennison, A. Jones, K. Boicourt, C. Wicks, J. Woerner, Effects of nutrient enrichment in the nation's estuaries: a decade of change, *Harmful Algae* 8 (2008) 21–32.
- [10] R.C. Dugdale, F.P. Wilkerson, H.J. Minas, The role of silicate pump in driving new production, *Deep Sea Res. Part I* 42 (1995) 697–719, [https://doi.org/10.1016/0967-0637\(95\)00015-X](https://doi.org/10.1016/0967-0637(95)00015-X).
- [11] R.C. Dugdale, F.P. Wilkerson, Silicate regulation of new production in the equatorial Pacific upwelling, *Nature* 391 (1998) 270–273, <https://doi.org/10.1038/34630>.
- [12] P.G. Falkowski, R.T. Barber, V. Smetacek, Biogeochemical controls and feedback on ocean primary production, *Science* 281 (1999) 200–206.
- [13] K.R. Arrigo, Marine microorganisms and global nutrient cycles, *Nature* 437 (2005) 349–355, <https://doi.org/10.1038/nature04159>.
- [14] R.J. Matear, Y.-P. Wang, A. Lenton, Land and ocean nutrient and carbon cycle interactions, *Curr. Opin. Environ. Sustain.* 2 (2010) 258–263, <https://doi.org/10.1016/j.custos.2010.05.009>.
- [15] P.J. Frings, W. Clymans, G. Fontorbe, C. De La Rocha, D.J. Conley, The continental Si cycle and its impact on the ocean Si isotope budget, *Chem. Geol.* 425 (2016) 12–36, <https://doi.org/10.1016/j.chemgeo.2016.01.020>.
- [16] M. Voss, H.W. Bange, J.W. Dippner, J.J. Middelburg, J.P. Montoya, B. Ward, The marine nitrogen cycle: recent discoveries, uncertainties and the potential relevance of climate change, *Phil. Trans. R. Soc. B* 368 (2013), 20130121.
- [17] C. Le Quéré, T. Takahashi, E.T. Buitenhuis, C. Rödenbeck, S.C. Sutherland, Impact of climate change and variability on the global oceanic sink of CO_2 , *Global Biogeochem. Cycles* 24 (2010), GB4007, <https://doi.org/10.1029/2009GB003599>, 2010.
- [18] T. Bahri, M. Barange, H. Moustahfid, Climate change and aquatic systems, in: M. Barange, T. Bahri, M.C.M. Beveridge, K.L. Cochrane, S. Funge-Smith, F. Poullain (Eds.), *Impacts of Climate Change on Fisheries and Aquaculture*, FAO, Rome, 2018, pp. 1–17.
- [19] L. Bopp, L. Resplandy, J.C. Orr, S.C. Doney, J.P. Dunne, M. Gehlen, P. Halloran, C. Heinze, T. Ilyina, R. Séférian, J. Tjiputra, M. Vichi, Multiple stressors of ocean ecosystems in the 21st century: projections with CMIP5 models, *Biogeosciences* 10 (2013) 6225–6245.
- [20] Z.A. Wang, H. Moustahfid, A.V. Mueller, A.P.M. Michel, M. Mowlem, B.T. Glazer, T.A. Mooney, W. Michaels, J.S. McQuillan, J.C. Robidart, J. Churchill, M. Sourisseau, A. Daniel, A. Schaap, S. Monk, K. Friedman, P. Brehmer, Advancing observation of ocean biogeochemistry, biology, and ecosystems with cost-effective *in situ* sensing technologies, *Front. Mar. Sci.* 6 (2019) 519.
- [21] A. Aminot, R. Kérouel, Dosage automatique des nutriments dans les eaux marines, Ifremer, Plouzané, 2007.
- [22] R. Vuillemin, D. Thouron, G. Gallou, L. Pares, B. Brient, A. Dubreule, V. Garçon, ANAIS: autonomous nutrient analyzer *in-situ*: a first step to profiler chemical analyzers for long-term monitoring; meets the quality requirements defined in JGOFS and WOCE programs, *Sea Technol.* 40 (1999) 75–78.
- [23] D. Thouron, R. Vuillemin, X. Philippou, A. Lourenço, C. Provost, A. Cruzado, V. Garçon, An autonomous nutrient analyser for oceanic long-term *in situ* biogeochemical monitoring, *Anal. Chem.* 75 (2003) 2601–2609, <https://doi.org/10.1021/ac020696+>.
- [24] M.D. Patey, M.J.A. Rijkenberg, P.J. Statham, M.C. Stinchcombe, E.P. Achterberg, M. Mowlem, Determination of nitrate and phosphate in seawater at nanomolar concentrations, *Trends Anal. Chem.* 27 (2008) 169–182, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.12.006>.
- [25] J. Ma, L. Adornato, R.H. Byrne, D. Yuan, Determination of nanomolar levels of nutrients in seawater, *Trends Anal. Chem.* 60 (2014) 1–15, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2014.04.013>.
- [26] A.D. Beaton, C.L. Cardwell, R.S. Thomas, V.J. Sieben, F.-E. Legiret, E.M. Waugh, P. J. Statham, M.C. Mowlem, H. Morgan, Lab-on-chip measurement of nitrate and nitrite for *in situ* analysis of natural waters, *Environ. Sci. Technol.* 46 (2012) 9548–9556, <https://doi.org/10.1021/es300419u>.
- [27] M.M. Grand, G.S. Clinton-Bailey, A.D. Beaton, A.M. Schaap, T.H. Johengen, M. N. Tamburri, D.P. Connelly, M.C. Mowlem, E.P. Achterberg, A Lab-on Chip phosphate analyzer for long-term *in situ* monitoring at fixed observatories: optimization and performance evaluation in estuarine and oligotrophic coastal waters, *Front. Mar. Sci.* 4 (2017) 255, <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00255>.
- [28] F.-E. Legiret, V.J. Sieben, E.M.S. Woodward, S.K. Abi Kaed Bey, M.C. Mowlem, D. P. Connelly, E.P. Achterberg, A high performance microfluidic analyser for phosphate measurements in marine waters using the vanadomolybdate method, *Talanta* 116 (2013) 382–387, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.05.004>.
- [29] X. Cao, S.W. Zhang, D.Z. Chu, N. Wu, H.K. Ma, Y. Liu, A design of spectrophotometric microfluidic chip sensor for analyzing silicate in seawater, *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.* 82 (2017), 012080, <https://doi.org/10.1088/1755-1315/82/1/012080>.
- [30] A.V. Medvetstii, T.I. Tikhomirova, A.D. Smolenkov, E.N. Shapovalova, O. A. Shpigun, Sorption-chromatographic determination of phosphate and silicate ions in waters as molybdc heteropoly acids, *J. Anal. Chem.* 62 (2007) 213–218.

- [31] K. Yoshimura, H. Waki, Ion-exchanger phase absorptiometry for trace analysis, *Talanta* 32 (1985) 345–352.
- [32] M. Lacombe, V. Garçon, M. Comtat, L. Oriol, J. Sudre, D. Thouron, N. Le Bris, C. Provost, Silicate determination in sea water: toward a reagentless electrochemical method, *Mar. Chem.* 106 (2007) 489–497.
- [33] M. Lacombe, V. Garçon, D. Thouron, N. Le Bris, M. Comtat, Silicate electrochemical measurements in seawater: chemical and analytical aspects towards a reagentless sensor, *Talanta* 77 (2008) 744–750.
- [34] D. Aguilar, C. Barus, W. Giraud, E. Calas, E. Vanhove, A. Laborde, J. Launay, P. Temple-Boyer, N. Striebig, M. Armengaud, V. Garçon, Silicon-based electrochemical microdevices for silicate detection in seawater, *Sens. Actuators B* 211 (2015) 116–124.
- [35] C. Barus, D. Chen Legrand, I. Romanytsia, J. Jońca, N. Striebig, B. Jugeau, A. David, M. Valladares, P. Munoz Parra, M. Ramos, B. Dewitte, V. Garçon, Nutrients electrochemical sensors, in: E. Delory, J. Pearlman (Eds.), *Ocean in Situ Sensors: New Developments in Biogeochemistry Sensors*, Elsevier, 2018, pp. 50–64.
- [36] J. Jońca, W. Giraud, C. Barus, M. Comtat, N. Striebig, D. Thouron, V. Garçon, Reagentless and silicate interference free electrochemical phosphate detection in seawater, *Electrochim. Acta* 88 (2013) 165–169.
- [37] C. Barus, I. Romanytsia, N. Striebig, V. Garçon, Toward an *in situ* phosphate sensor in seawater using Square Wave Voltammetry, *Talanta* 160 (2016) 417–424.
- [38] D. Chen Legrand, C. Barus, V. Garçon, Square wave voltammetry measurements of low concentrations of nitrate using Au/AgNPs electrode in chloride solutions, *Electroanalysis* 29 (2017) 2882–2887.
- [39] C. Barus, D. Chen Legrand, N. Striebig, B. Jugeau, A. David, M. Valladares, P. Munoz Parra, M.E. Ramos, B. Dewitte, V. Garçon, First deployment and validation of *in situ* silicate electrochemical sensor in seawater, *Front. Mar. Sci.* 5 (2018) 60.
- [40] A. Aminot, R. Kérouel, *Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses*, Ifremer, Brest, 2004.
- [41] P. Tréguer, P. Le Corre, *Handbook of seawater nutrient analyses. Autoanalyser II Technicon User Guide*, Université de Bretagne Occidentale, second ed., Laboratoire de Chimie marine, Brest, France, 1975, pp. 1–110.
- [42] D.R. Schink, N.L. Guinasso, K.A. Fanning, Processes affecting the concentration of silica at the sediment-water interface of the Atlantic Ocean, *J. Geophys. Res.* 80 (1975) 3013–3031.
- [43] P. Tréguer, D.M. Nelson, A.J. Van Bennekom, D.J. DeMaster, A. Leynaert, B. Quéguiner, The silica balance in the world ocean: a reestimate, *Science* 268 (1995) 375–379.
- [44] P.J. Tréguer, C.L. De La Rocha, The world ocean silica cycle, *Annu. Rev. Mar. Sci.* 5 (2013) 477–501.
- [45] J.C. Quintana, L. Idrissi, G. Palleschi, P. Albertano, A. Amine, M. El Rhazi, D. Moscone, Investigation of amperometric detection of phosphate application in seawater and cyanobacterial biofilm samples, *Talanta* 63 (2004) 567–574.
- [46] Y. Bai, J. Tong, J. Wang, C. Bian, S. Xia, Electrochemical microsensor based on gold nanoparticles modified electrode for total phosphorus determinations in water, *IET Nanobiotechnol.* 8 (2014) 31–36.
- [47] A.G. Fogg, N.K. Bsebsu, B.J. Birch, Differential-Pulse anodic voltammetric determination of phosphate, silicate, arsenate and germanate as β -heteropolymolybdates at a stationary glassy-carbon electrode, *Talanta* 28 (1981) 473–476.
- [48] A.G. Fogg, N.K. Bsebsu, Differential-pulse voltammetric determination of phosphate as molybdovanadophosphate at a glassy carbon electrode and assessment of eluents for the flow injection voltammetric determination of phosphate, silicate, arsenate and germanate, *Analyst* 106 (1981) 1288–1295.
- [49] R.A. Chalmers, A.G. Sinclair, Analytical applications of β -heteropoly acids – part I. Determination of arsenic, germanium and silicon, *Anal. Chim. Acta* 33 (1965) 384–390.
- [50] C.C. Kircher, S.R. Crouch, Kinetics of the formation and decomposition of 12-molybdophosphate, *Anal. Chem.* 55 (1983) 242–248.
- [51] K. Maeda, S. Himeno, T. Osakai, A. Saito, T. Hori, A voltammetric study of Keggin-type heteropolymolybdate anions, *J. Electroanal. Chem.* 364 (1994) 149–154.
- [52] C.V. Krishnan, M. Garnett, B. Hsiao, B. Chu, Electrochemical measurements of isopolyoxomolybdates: 1. pH dependent behavior of sodium molybdate, *Int. J. Electrochem. Sci.* 2 (2007) 29–51.
- [53] P.A. Nikolaychuk, A.G. Tyurin, Thermodynamics of chemical and electrochemical stability of the Mo-Si system alloys, *Butlerov's Heritage-2011, Бутлеровское наследие* (2011) 253–259.
- [54] J. Jońca, C. Barus, W. Giraud, D. Thouron, V. Garçon, M. Comtat, Electrochemical behaviour of isopoly- and heteropolyoxomolybdates formed during anodic oxidation of molybdenum in seawater, *Int. J. Electrochem. Sci.* 7 (2012) 7325–7348.
- [55] S. Somnam, S. Motomizu, K. Grudpan, J. Jakmunee, Hydrodynamic sequential injection with stopped-flow procedure for consecutive determination of phosphate and silicate in wastewater, *Chiang Mai J. Sci.* 41 (2014) 606–617.
- [56] E.A. Nagul, I.D. McKelvie, P. Worsfold, S.D. Kolev, The molybdenum blue reaction for the determination of orthophosphate revisited: opening the black box, *Anal. Chim. Acta* 890 (2015) 60–82.
- [57] B. Wang, S. Dong, Electrochemical study of isopoly- and heteropoly-oxometallates film modified microelectrodes – VI. Preparation and redox properties of 12-molybdophosphoric acid and 12-molybdosilicic acid modified carbon fiber microelectrodes, *Electrochim. Acta* 41 (1996) 895–902.
- [58] N.G. Carpenter, A.W.E. Hodgson, D. Pletcher, Microelectrode procedures for the determination of silicate and phosphate in waters – fundamental studies, *Electroanalysis* 9 (1997) 1311–1317, <https://doi.org/10.1002/elan.1140091703>.
- [59] K. Unoura, N. Tanaka, Comparative study of the electrode reactions of 12-molybdosilicate and 12-molybdophosphate, *Inorg. Chem.* 22 (1983) 2963–2964.
- [60] K. Eguchi, Y. Toyozawa, N. Yamazoe, T. Seiyama, An infrared study of the reduction processes of dodecamolybdophosphates, *J. Catal.* 83 (1983) 32–41.
- [61] M. Sadakane, E. Steckhan, Electrochemical properties of polyoxometalates as electrocatalysts, *Chem. Rev.* 98 (1998) 219–237.
- [62] S. Choi, J. Kim, Adsorption properties of keggins-type polyoxometalates on carbon based electrode surfaces and their electrocatalytic activities, *Bull. Korean Chem. Soc.* 30 (2009) 810–816.
- [63] R.B. Dean, W.J. Dixon, Simplified statistics for small numbers of observations, *Anal. Chem.* 23 (1951) 636–638.
- [64] H. Ota, H. Mitsuda, M. Kimura, T. Kitao, Reference materials for nutrients in seawater: their development and present homogeneity and stability, in: M. Aoyama, A.G. Dickson, D.J. Hydes, A. Murata, J.R. Oh, P. Roose, E.M. S. Woodward (Eds.), *Comparability of Nutrients in the World's Ocean*, Mother Tank, Tsukuba, Japan, 2010, pp. 11–30.
- [65] M. Aoyama, H. Ota, M. Kimura, T. Kitao, H. Mitsuda, A. Murata, K. Sato, Current status of homogeneity and stability of the reference materials for nutrients in seawater, *Anal. Sci.* 28 (2012) 1–6.
- [66] Y. Collos, B. Bec, C. Jauzein, E. Abadie, T. Laugier, J. Lautier, A. Pastoureaud, P. Souchu, A. Vaquer, Oligotrophication and emergence of picocyanobacteria and a toxic dinoflagellate in Thau Lagoon, southern France, *J. Sea Res.* 61 (2009) 68–75.
- [67] N. Laanaia, A. Vaquer, A. Fiandrino, B. Genovesi, A. Pastoureaud, P. Cecchi, Y. Collos, Wind and temperature controls on Alexandrium blooms (2000–2007) in Thau lagoon (Western Mediterranean), *Harmful Algae* 28 (2013) 31–36.
- [68] E. Fouilland, A. Trotter, C. Bancon-Montigny, M. Bouvy, E. Le Floch, J.-L. Gonzalez, E. Hatey, S. Mas, B. Mostajir, J. Nougier, D. Pecqueur, E. Rochelle-Newall, C. Rodier, C. Roques, C. Salles, M.-G. Tournoud, F. Vidussi, Impact of a river flood on microbial carbon and nitrogen production in a Mediterranean Lagoon (Thau Lagoon, France), *Estuarine Coast. Shelf Sci.* 113 (2012) 192–204.
- [69] B. Millet, Hydrodynamic motions in the bassin de Thau, Ecological corroboration of a numerical model of circulation, *Oceanol. Acta* 12 (1989) 37–46.
- [70] P. Souchu, A. Gasc, Y. Collos, A. Vaquer, H. Tournier, B. Bibent, J.-M. Deslous-Paoli, Biogeochemical aspects of bottom anoxia in a Mediterranean lagoon (Thau, France), *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 164 (1998) 135–146.
- [71] R.J. Gowen, Y. Collos, P. Tett, C. Scherer, B. Bec, E. Abadie, M. Allen, T. O'Brien, Response of diatom and dinoflagellate lifeforms to reduced phosphorus loading: a case study in the Thau lagoon, France, *Estuarine Coast. Shelf Sci.* 162 (2015) 45–52.
- [72] G. Thouzeau, J. Grall, J. Clavier, L. Chauvaud, F. Jean, A. Leynaert, S. ni Longphuit, E. Amice, D. Amoureux, Spatial and temporal variability of benthic biogeochemical fluxes associated with macrophytic and macrofaunal distributions in the Thau lagoon (France), *Estuarine Coast. Shelf Sci.* 72 (2007) 432–446.

Dr. Dancheng Chen Legrand received her Ph. D. degree in 2012 from University of Toulouse, France in Process Engineering. She joined the LEGOS (Laboratoire d'Etudes en Géophysique et Océanographie Spatiales, Toulouse, France) in 2014 where she worked on a gold modified electrode for *in situ* nitrate detection in seawater and then on the development of autonomous silicate and phosphate electrochemical sensors in marine environments.

Dr. Sébastien Mas received his Ph.D. degree in 2008 from University of Rimouski, Canada in Oceanography with a focus on marine bio-optic. Since 2009, he is CNRS Research Engineer in Experimental Marine Ecology (in particular related to climate change) at MEDIMEER platform (MEDiterranean platform for Marine Ecosystem Experimental Research). Her research activities are focused on use of sensors for studies of ecosystem functioning.

Benoit Jugeau is for more than 10 years the mechanical expert at nke instrumentation. Its role is to propose new mechanical solutions either for issues on already known sensors or for sensors resulting from R&D projects. His field of expertise is mainly focused on sensor mechanical design for oceanographic and coastal application.

Dr. Arnaud David received his Ph. D. degree in 1999 from University of Rennes I, France in Telecommunication and signal processing. During the following 10 years his activities was focussed on design of new electronic measurement systems for onshore and offshore applications. Since 2009 he is the R&D department manager of nke instrumentation. The research activities point out the definition of new technological solutions to measure chemical or biogeochemical parameters in coastal and oceanographic waters.

Dr. Carole Barus received her Ph. D. degree in 2008 from University of Toulouse, France in Chemical Engineering and Environment with a focus on electrochemical sensors and processes. Since 2011, she is a Research Engineer in Analytical Electrochemistry at LEGOS, responsible of the 'Electrochemical platform'. Her research activities contribute to develop electrochemical methods to detect molecules of interest in natural waters and new *in situ*, autonomous, electrochemical sensors in marine environments.

Chapitre III :

Mise au point d'électrodes bimétalliques pour
la détection des nitrates – Contrôle du
procédé de dépôt électrolytique

Chapitre III : Mise au point d'électrodes bimétalliques pour la détection des nitrates - Contrôle du procédé de dépôt électrolytique

I – Détection des nitrates : quels enjeux ?	70
II – Electrode bimétallique AgNPs/Au	71
II.1 – Influence de la charge de dépôt Ag	72
II.2 – Caractérisation du dépôt d'Ag sur Au.....	75
III – Contrôle du procédé de dépôt électrolytique du cuivre	76
III.1 – Etude de nucléation du cuivre.....	77
III.2 – Optimisation des paramètres de dépôt	81
III.2.1 - Potentiel de dépôt de Cu	81
III.2.2 - Charge optimale de dépôt	82
III.3 – Evaluation des performances Cu/Ag : détection NO_3^- dans des matrices d'eaux naturelles	84
III.3.1 - Détection dans l'eau de mer	85
III.3.1.1 - Etalonnage et évaluation de la sensibilité	85
III.3.1.2 - Justesse de mesure	86
III.3.2 - Détection dans l'eau douce potable.....	87
IV – Conclusions	89
Références bibliographiques.....	90

Un autre axe de recherche, plus fondamental (TRL 3) que j'ai initié au LEGOS concerne la conception contrôlée et optimisée d'électrodes bimétalliques pour la détection électrochimique directe des nitrates dans l'eau de mer. Ces travaux ont été réalisés dans le cadre du projet MIACTIS (Microsystèmes Intégrés pour l'Analyse de Composés en Traces *In situ*), financé par le RTRA-STAE au sein du Chantier Instrumentation et Capteurs Environnementaux (2014-2017) au cours duquel j'ai encadré une post-doctorante Dancheng Chen Legrand (18 mois) et dirigé le stage DUT Mesures Physiques de Pierre Boutet (4 mois en 2016).

Les résultats obtenus ont mis en évidence la nécessité absolue de contrôler le procédé de modification de l'électrode. Une compréhension des phénomènes surfaciques lors du dépôt électrolytique est nécessaire afin d'optimiser les conditions opératoires du dépôt pour élaborer de nouveaux matériaux à la fois sensibles, reproductibles et stables dans le temps. C'est dans ce contexte que j'ai contacté l'équipe Procédés Electrochimiques et Sels Fondus du Laboratoire de Génie Chimique afin de collaborer sur les aspects de modification de surface d'électrode et plus particulièrement la caractérisation des dépôts électrolytiques dont l'équipe possède une solide expertise. Ces travaux ont été réalisés dans le cadre du projet NESS (Nitrate Electrochemical SenSor) au cours duquel j'ai co-encadré le stage M2 PCE2 (Procédés Physico-Chimiques pour la Chimie, l'Environnement et l'Energie) de Sherif Abed (2019) et assuré sa co-direction de sa thèse (2019-2022) avec Laurent Massot. Ces travaux de thèse ont été co-financés par la Région Occitanie (Allocation Doctorale) et nke Instrumentation que j'ai sollicitée pour investir dans ce projet.

I – Détection des nitrates : quels enjeux ?

Les nitrates (NO_3^-), éléments limitant la production primaire biologique dans les écosystèmes marins, sont la principale forme azotée assimilée par le phytoplancton pour leur croissance. Le cycle de l'azote est intimement lié à celui du carbone, participant à la séquestration du dioxyde de carbone (CO_2) dans les océans via la photosynthèse [1]. La gamme de concentration des nitrates dans l'océan ouvert est comprise entre quelques nanomolaires dans l'océan de surface, jusqu'à $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ dans l'océan profond avec de très fortes variations spatiales et temporelles dues aux différents processus physiques et biologiques.

Paradoxalement, un excès de nitrates conduit à une eutrophisation du milieu aux conséquences désastreuses sur l'environnement comme par exemple une hypoxie* côtière, l'apparition de marées vertes... [2]. Une surveillance de la qualité des eaux continentales et du littoral et un suivi des rejets anthropiques de nitrates sont également un enjeu sociétal majeur au niveau national. La limite de potabilité des eaux est fixée en Europe par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) à $50 \text{ mg/NO}_3^- \text{ L}^{-1}$ soit $806 \mu\text{mol L}^{-1}$ [3].

A ce jour, les capteurs disponibles pour la détection *in situ* des nitrates dans les eaux naturelles ne fournissent pas des performances satisfaisantes en termes de sensibilité (limite de détection $> 1 \mu\text{mol L}^{-1}$), de sélectivité (interférences aux ions bromure, aux carbonates, à la matière organique dissoute) [4-6] et de portabilité du capteur (ajouts de réactifs liquides qui nécessitent une intervention régulière sur les capteurs) [7,8].

Les nitrates, étant électroactifs, peuvent être détectés directement par les techniques électrochimiques [9,10]. L'électroréduction des nitrates a été largement étudiée sur différents matériaux d'électrodes (Pt, Pd, Ni, Pb, Zn, Fe, Cu, Ti, Au, Ag(Hg), Ru, Rh, Ir, Bi, Sn, alliages de Cu, de Sn...) [11,12]. Son mécanisme de réduction est complexe et, selon les conditions expérimentales telles que l'anion de l'électrolyte [13], le pH de la solution [14], la concentration en nitrate [15,16] ou encore la structure de l'électrode de travail [17], peut conduire à la formation de nitrite (NO_2^-), d'ammonium ($\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$), de diazote (N_2) mais également d'intermédiaires (HNO_2 , NO^+ , NH_2OH , N_2O ,...) [16,18,19].

Parmi les matériaux d'électrode proposés, les électrodes bimétalliques, composées d'un métal support sur lequel est électrodéposé un deuxième métal, et les structures à haute densité de surface (assemblage de microélectrodes, structures poreuses...) permettent d'atteindre les meilleures sensibilités du fait de leur plus grande surface active comparée aux électrodes monométalliques (non modifiées) [20-27]. La conception d'électrodes bimétalliques via un dépôt électrolytique contrôlé et optimisé représentait l'enjeu principal de ce projet.

II – Electrode bimétallique AgNPs/Au

Des travaux préliminaires sur une électrode d'or modifiée avec des nanoparticules d'argent (AgNPs/Au), effectués au LEGOS par Dancheng Chen Legrand ainsi que Pierre Boutet, ont mis en

* faible teneur en dioxygène dissous

exergue l'influence majeure du matériau d'électrode (composition bimétallique) et la complexité du mécanisme de réduction des nitrates qui est fortement dépendant des conditions expérimentales [24].

II.1 – Influence de la charge de dépôt Ag

La charge de dépôt (quantité de nanoparticules électrodéposées) est notamment un paramètre crucial, comme illustré sur la Figure III - 1 montrant l'influence de la charge sur le pic de réduction des nitrates ($0,1 \text{ mmol L}^{-1}$) observés à $E = -1,0 \text{ V}$ sur les voltammogrammes cycliques obtenus dans une solution de chlorure de sodium de $\text{pH} = 4,5$. Les pics observés à $E = -0,4 \text{ V}$ et $E = -0,6 \text{ V}$ correspondent à la réduction du dioxygène en deux étapes à la surface de l'or, celle-ci n'étant pas entièrement recouverte d'argent lors des différents dépôts.

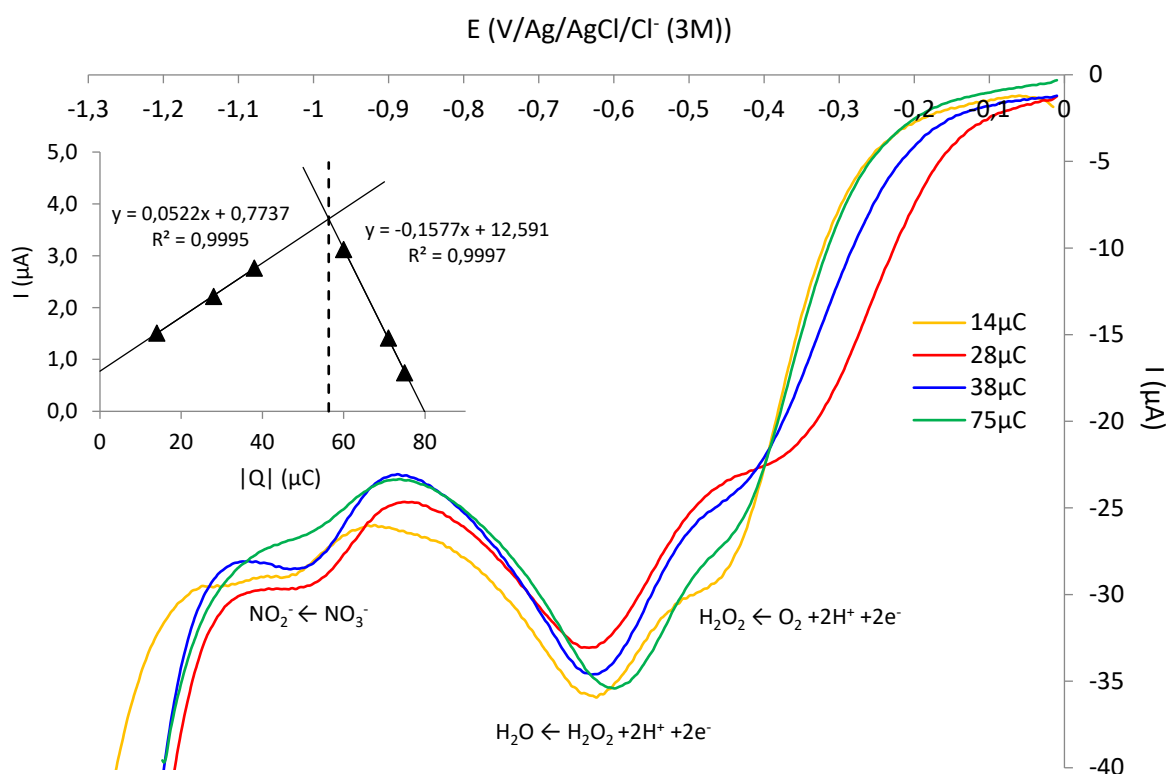


Figure III - 1 : Influence de la charge de dépôt de Ag sur Au sur les voltammogrammes cycliques (cycle aller) obtenus dans une solution de NaCl ($34,5 \text{ g L}^{-1}$) contenant $0,1 \text{ mmol L}^{-1}$ de KNO_3 ($v = 500 \text{ mV s}^{-1}$) – insert : Volcano plot $I_{\text{pic}}(\text{NO}_3^-) = f(|Q|)$ correspondant

Comme attendu, l'intensité du pic de réduction des nitrates augmente (en valeur absolue) linéairement lorsque la charge du dépôt électrolytique augmente, correspondant à une augmentation

de la surface active de l'électrode. Néanmoins au-delà d'une certaine charge, le signal des nitrates diminue, comme observé sur le « Volcano plot » en insert de la Figure III - 1.

Ce comportement a déjà été observé dans la bibliographie. En cristallographie, ce processus, connu sous le nom de maturation d'Ostwald (Ostwald ripening), correspond à la dissolution des plus petites particules qui se redéposent en particules de tailles bien plus grosses [28-30]. La surface active de l'électrode AgNPs/Au rediminue donc et l'électrode tend à se comporter de plus en plus comme une électrode monométallique. Le mécanisme de maturation d'Ostwald inclut un procédé de diffusion à la surface de l'électrode et au joint de grains et un mécanisme électrochimique. Les petites et les grandes particules agissent comme deux métaux différents avec des potentiels standards apparent différents, expliquant que les nitrates soient plus faciles à réduire sur une électrode recouverte de particules de petites tailles que sur un matériau monométallique massif, nu ou des particules de grosses tailles [28]. L'adsorption est également favorisée sur des petites particules, la surface active étant grande, facilitant encore la réduction [31].

Ainsi, pour maximiser l'activité catalytique de l'électrode et obtenir le signal le plus élevé pour la détection des nitrates, la charge de dépôt des particules d'argent doit être la plus grande possible, avant le début de la maturation d'Ostwald. Selon le principe de Sabatier, la charge optimale correspond à l'intersection des deux droites $I_{pic} = f(|Q|)$ sur le Volcano plot en insert de la Figure III - 1, déterminée à $|Q_{optimale}| = 56,3 \mu C$ [31,32]. En prenant en compte les erreurs expérimentales pour la construction du Volcano plot, une charge expérimentale légèrement plus faible a été choisie pour électrodéposer les nanoparticules d'argent à $|Q_{exp}| = 52 \mu C$.

Avec cette électrode bimétallique optimisée, des voltammogrammes à vague carrée ont été enregistrés à une fréquence de 100 Hz dans une solution de NaCl ($34,5 \text{ g L}^{-1}$) pour différentes concentrations en nitrates comprise entre $0,39$ et $50 \mu\text{mol L}^{-1}$. Sur la Figure III - 2, le potentiel de pic de réduction des nitrates se décale vers des potentiels de plus en plus élevés (de $-1,1 \text{ V}$ à $-0,9 \text{ V}$) lorsque la concentration en nitrates en solution augmente, indiquant que le transfert électronique est de plus en plus facile (demande une plus faible surtension cathodique). Bui *et al.* ont également observé ce phénomène sur une électrode de carbone fonctionnalisée avec des nanoparticules d'or en voltammétrie différentielle à impulsions (DPV) [33].

Les nitrates s'adsorbent à la surface de l'électrode avant d'y être réduits selon les équations III - 1 et III - 2 suivantes [16,31] :



L'équilibre de la réaction d'adsorption III - 1 est déplacé vers la formation de $\text{NO}_3^-_{\text{ads}}$ lorsque $\text{NO}_3^-_{\text{sol}}$ augmente, favorisant l'adsorption des nitrates et expliquant le décalage vers les potentiels plus élevés du pic de réduction des nitrates observés sur la Figure III - 2. Aux plus faibles concentrations en nitrate, la compétition avec l'adsorption des chlorures de l'électrolyte est également plus forte et en défaveur des nitrates [15,17,34].

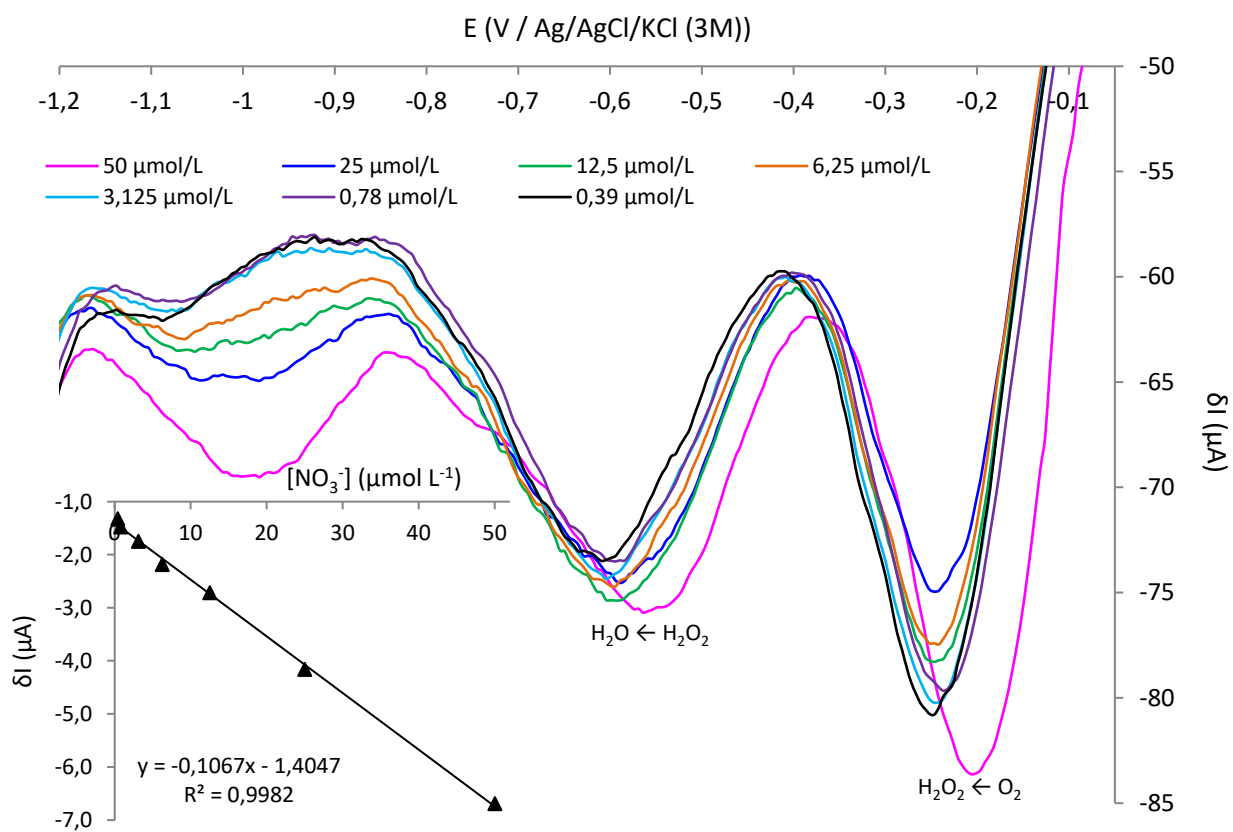


Figure III - 2 : Voltammogrammes à vague carrée à $f = 100$ Hz, $A = 60$ mV, $E_{\text{step}} = 5$ mV sur AgNPs/Au ($\varphi = 3$ mm, $Q_{\text{dépôt}} = -52$ μC) dans $34,5$ g L^{-1} de NaCl contenant $[\text{NO}_3^-] = 0,39$ (noir), $0,78$ (violet), $3,125$ (bleu clair), $6,25$ (orange), $12,5$ (vert), 25 (bleu foncé) et 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (rose) – Insert : Droite d'étalonnage $\Delta I_{(E \approx -1\text{V})} = f([\text{NO}_3^-])$

Sur la droite d'étalonnage en insert de la Figure III - 2, une bonne linéarité est obtenue sur l'ensemble de la gamme de concentration étudiée, correspondant à celle observée dans l'océan ouvert ($0,39\text{--}50\ \mu\text{mol L}^{-1}$) avec une limite de quantification (premier point aligné sur la droite d'étalonnage) très prometteuse de $0,39\ \mu\text{mol L}^{-1}$.

L'inconvénient de cette électrode modifiée est sa non reproductibilité d'un dépôt à l'autre, même en contrôlant la charge du dépôt d'Ag. Le mécanisme de dépôt électrolytique de l'argent sur l'or n'est pas donc complètement connu ni maîtrisé.

II.2 – Caractérisation du dépôt d'Ag sur Au

La caractérisation du dépôt d'argent sur un substrat en or a été réalisée lors du stage Master 2 de Sherif Abed, par voltammétrie cyclique dans une solution de nitrate d'argent (AgNO_3) à $0,17\ \text{mol L}^{-1}$.

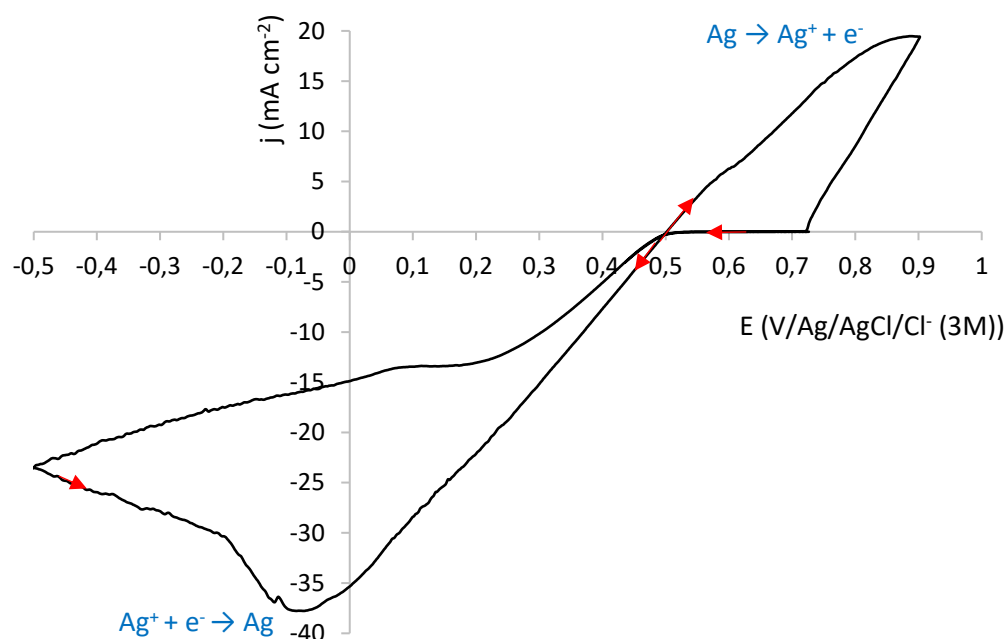


Figure III - 3 : Voltammogramme cyclique sur or enregistré à $50\ \text{mV s}^{-1}$ dans une solution de nitrate d'argent ($[\text{AgNO}_3] = 0,17\ \text{mol L}^{-1}$) diluée dans $[\text{KNO}_3] = 0,1\ \text{mol L}^{-1}$

Le pic en réduction observé à $-0,1\text{ V}$ sur le voltammogramme de la Figure III - 3 correspond à la réduction des ions Ag^{+} en solution en Ag métallique à la surface de l'électrode d'or. Le croisement du signal (« crossover ») entre le balayage aller et le balayage retour est en effet caractéristique de la

formation d'une phase solide. La redissolution de l'argent est observée en oxydation à partir de 0,5 V. Il n'est cependant pas observé de surtension de nucléation (η) qui correspond à l'écart entre le potentiel d'équilibre du couple Ag^+/Ag ($E_{l=0}$) et le potentiel de formation des premiers nucléi d'Ag à la surface de l'électrode d'au ($E_{\text{nucléi}}$). Le phénomène de nucléation, non visible, n'a donc pas pu être étudié pour ce couple bimétallique. Ces résultats peuvent être dus au fait que l'argent et l'or ont des propriétés cristallographiques très proches. Ils ont notamment des rayons métalliques, correspondant à la moitié de la distance des noyaux de deux atomes voisins dans un échantillon solide, quasi identiques avec $r_{\text{M}}(\text{Ag}) = 133,9 \text{ pm}$ et $r_{\text{M}}(\text{Au}) = 133,6 \text{ pm}$ [35] ainsi que des longueurs de liaisons métalliques Ag—Ag et Au—Au très proches avec respectivement $l_{(\text{Ag}-\text{Ag})} = 2,8894 \text{ \AA}$ et $l_{(\text{Au}-\text{Au})} = 2,8841 \text{ \AA}$ [36].

Nous avons également montré que la sensibilité obtenue avec l'électrode Ag/Au dans des solutions de chlorure de sodium ($\text{pH} = 4,5$) n'est pas confirmée à $\text{pH} \approx 8$, pH moyen de l'eau de mer. En se plaçant dans de l'eau de mer artificielle composée de NaCl ($32,74 \text{ g L}^{-1}$), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($7,26 \text{ g L}^{-1}$) et NaHCO_3 ($0,172 \text{ g L}^{-1}$) de $\text{pH} \approx 8$, l'électrode AgNPs/Au ne permet pas la détection des nitrates même à une concentration de 1 mmol L^{-1} sans acidifier le milieu, ce qui n'est pas acceptable pour l'application de capteur *in situ* visée.

D'autres couples bimétalliques ont donc été étudiés dans le cadre de la thèse de Sherif Abed dont j'ai assuré la co-direction (50 %).

III – Contrôle du procédé de dépôt électrolytique du cuivre

De nombreux auteurs ont mis en évidence les propriétés électrocatalytiques du cuivre vis-à-vis de l'électroréduction des nitrates [13,14,20,23,27,37-42]. Il a donc été décidé de réaliser des dépôts électrolytiques de cuivre sur différents substrats métalliques. Dans un premier temps, une étude de nucléation a été réalisée sur chacun des 4 substrats testés (Au, Ag, Pt et INOX 316 L), suivie de l'optimisation des paramètres des dépôts puis l'évaluation des performances des électrodes obtenues vis-à-vis de la détection des nitrates.

III.1 – Etude de nucléation du cuivre

L'étude des premiers instants de formation des nucléi de cuivre a été étudiée sur plusieurs substrats métalliques. La même procédure a été appliquée à l'ensemble des électrodes testées (Au, Ag, Pt, INOX 316 L*), seul le couple bimétallique Cu/Au est présenté ici.

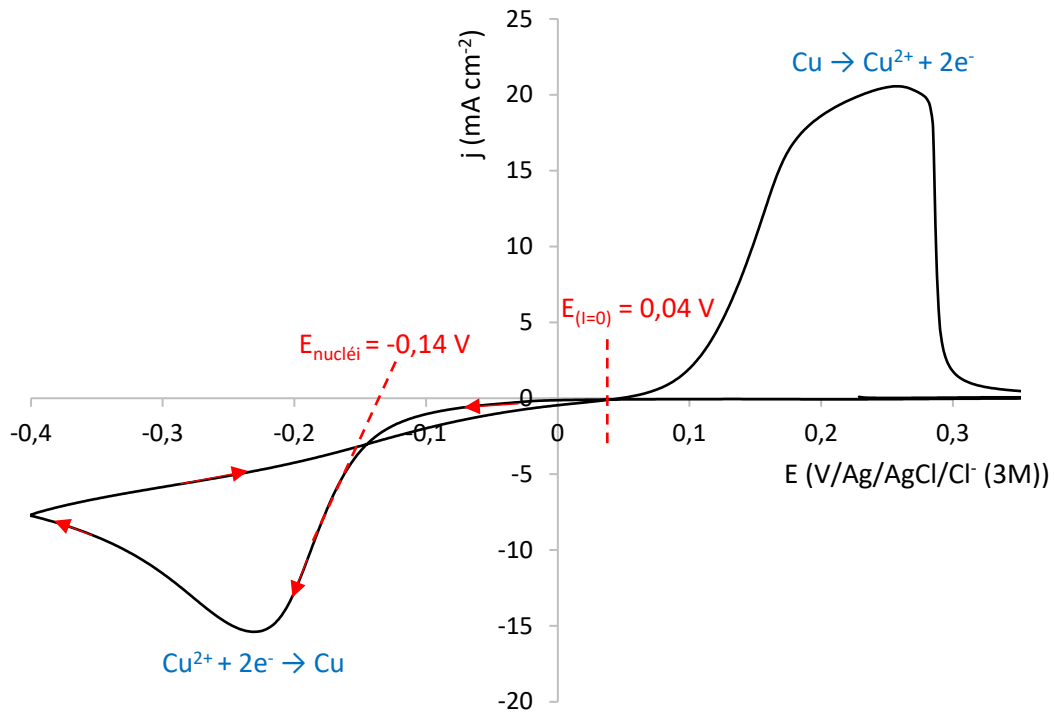


Figure III - 4 : Voltammogramme cyclique sur or enregistré à 50 mV s^{-1} dans une solution désaérée et agitée ($\omega=1000 \text{ rpm}$) de sulfate de cuivre ($[\text{CuSO}_4] = 0,1 \text{ mol L}^{-1}$) dissous dans $[\text{H}_2\text{SO}_4] = 1 \text{ mol L}^{-1}$

Sur le voltammogramme cyclique enregistré sur une électrode d'or, le pic de réduction des ions Cu^{2+} présents en solution en Cu à la surface de l'électrode d'or est observée à $E_{\text{pic}} = -0,23 \text{ V}$ sur la Figure III - 4. Le pic en oxydation vers $0,2 \text{ V}$ correspond à la redissolution du cuivre électrodéposé. Ce voltammogramme met en évidence un processus d'électrocristallisation, correspondant au croisement du signal (crossover) entre le balayage aller et le balayage retour, traduisant une irréversibilité due à la formation des nucléi de cuivre sur le substrat d'or. Contrairement au couple Ag/Au, une surtension de nucléation ($\eta = E_{\text{nucléi}} - E_{(I=0)}$) d'environ 180 mV est observée sur le

* Alliage à base de Fer contenant du Cr (16-18 %), du Ni (10-14 %) et du Mo (2-3 %) (% massique)

voltammogramme, correspondant à l'énergie supplémentaire à fournir au système pour déposer les premiers nucléi de cuivre sur le substrat. La surtension de nucléation représente la surtension minimale à appliquer pour réaliser le dépôt de cuivre par électrolyse potentiostatique.

Il existe deux modes de nucléation dont les schémas sont présentés sur la Figure III - 5 :

- la **nucléation instantanée** où tous les nucléi germent en même temps à l'application d'une polarisation (intensio-statique ou potentiostatique) puis croissent (en taille, de manière homogène) au cours du temps,
- la **nucléation progressive** où des nucléi se forment continuellement et croissent au cours de l'électrolyse formant ainsi des grains de taille inhomogène.

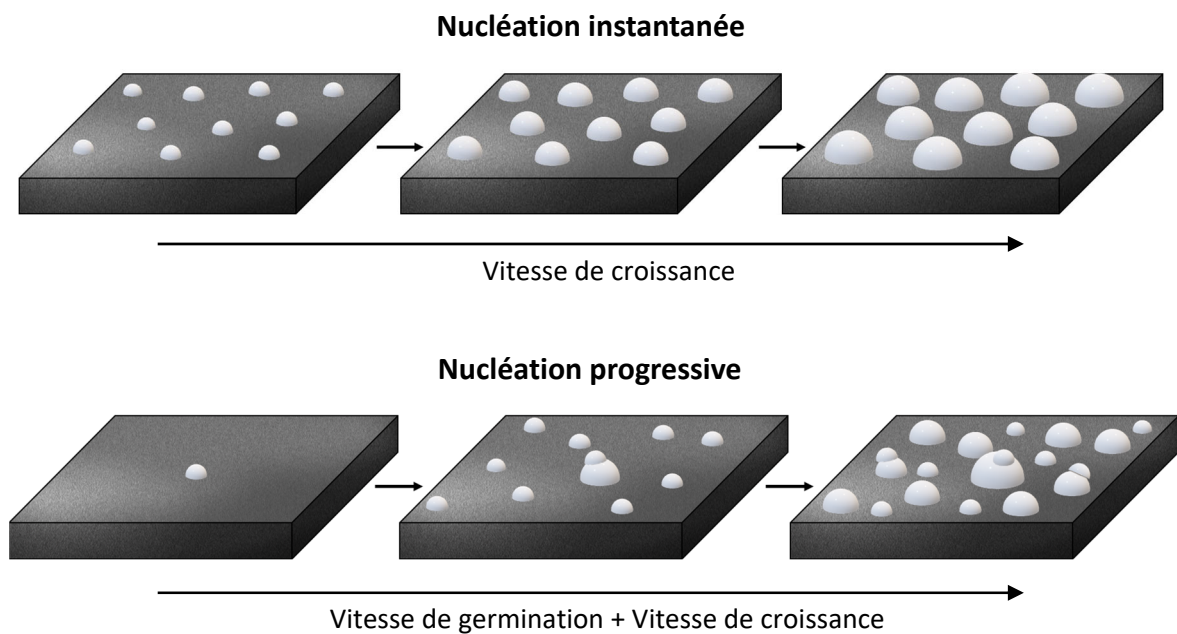


Figure III - 5 : Représentation schématique des modes de nucléation progressive et instantanée

La vitesse globale de croissance des nucléi dépend donc de la vitesse de germination correspondant au nombre de nucléi déposés en fonction du temps et la vitesse de croissance représentant l'augmentation de la taille de ces nucléi au cours du temps.

La chronoampérométrie, qui consiste à appliquer un potentiel fixe et de suivre l'évolution de l'intensité (ou densité de courant) en fonction du temps, permet d'étudier et de caractériser les phénomènes de germination et de croissance d'un dépôt métallique [43]. Le chronoampérogramme de la Figure III - 6, enregistré sur une électrode d'or à $E = -0,14$ V dans une solution désaérée de H_2SO_4 (1 mol L^{-1}) contenant $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de $CuSO_4$ est caractérisé par 3 zones :

- zone I : charge de la double-couche et formation des premiers nucléi
- zone II : croissance des cristaux entraînant une augmentation de la surface active de l'électrode jusqu'à un maximum (pic) de coordonnées t_m , I_m où les vitesses de croissance et de diffusion sont du même ordre de grandeur. La surface active de l'électrode est maximale à ce point. Dans le cas où il n'y a pas de formation de cristaux ou bien que la cinétique de formation est très rapide, le chronoampérogramme ne présente pas cette zone II.
- zone III : limitation du courant par la diffusion linéaire semi-infinie des ions métalliques Cu^{2+} en solution (loi de Cottrell : I est proportionnel à $t^{-1/2}$).

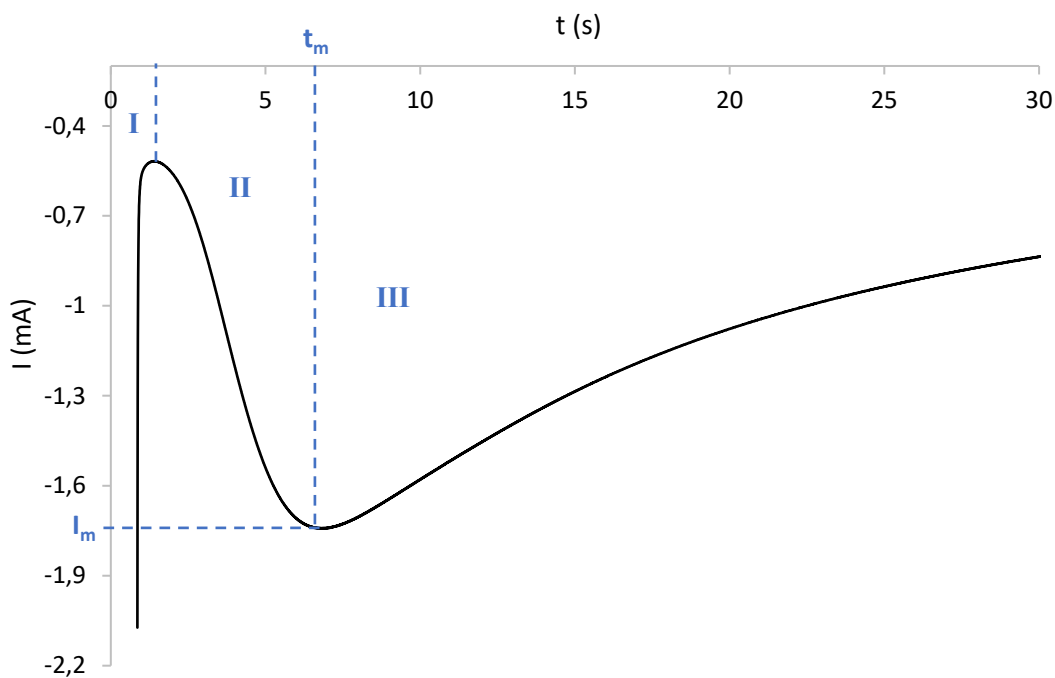


Figure III - 6 : Chronoampérogramme enregistré à $E = -0,14$ V sur une électrode d'or plongée dans une solution désaérée de $CuSO_4$ à $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ dans H_2SO_4 (1 mol L^{-1})

L'exploitation de la courbe $I=f(t)$ (Figure III - 6) dans les zones II et III permet de caractériser le mode de nucléation grâce au modèle mathématique de Scharifker et Hills [43,44]. Ce modèle prend en compte le caractère tridimensionnel de la croissance en considérant la diffusion et la croissance en volume des dépôts et permet de déterminer expérimentalement le mode de nucléation, en comparant le tracé $\left(\frac{I}{I_m}\right)^2 = f\left(\frac{t}{t_m}\right)$ aux courbes théoriques pour chacun des 2 modes de nucléations, dont les équations adimensionnelles sont rassemblées dans le Tableau III - 1. Par soucis de clarté, seules les équations finales sont présentées.

Tableau III - 1 : Equations adimensionnelles des modèles de nucléation instantanée et progressive

Nucléation instantanée	Nucléation progressive
$\left(\frac{I}{I_m}\right)^2 = \frac{1,9542}{\frac{t}{t_m}} \left(1 - \exp\left[-1,2564\left(\frac{t}{t_m}\right)\right]\right)^2$ $I_m = 0,6382 n F D C_0 (k N_0)^{1/2}$ $t_m = \frac{1,2564}{N_0 \pi k D}$ $k = \left(\frac{8 \pi C_0 M}{\rho}\right)^{1/2}$	$\left(\frac{I}{I_m}\right)^2 = \frac{1,2254}{\frac{t}{t_m}} \left(1 - \exp\left[-2,3367\left(\frac{t}{t_m}\right)^2\right]\right)^2$ $I_m = 0,4615 n F D^{\frac{3}{4}} C_0 (k' A N_0)^{1/4}$ $t_m = \left(\frac{4,6733}{A N_0 \pi k' D}\right)^{1/2}$ $k' = \frac{4}{3} \left(\frac{8 \pi C_0 M}{\rho}\right)$

avec A : constante de vitesse de germination (s^{-1}), C_0 : concentration de l'espèce en solution ($mol\ cm^{-3}$), D : coefficient de diffusion ($cm^2\ s^{-1}$), F = 96500 C mol^{-1} : constante de Faraday, k : vitesse d'incorporation des atomes ($mol\ cm^{-2}\ s^{-1}$), M : masse molaire du métal déposé ($g\ mol^{-1}$), n : nombre d'électrons échangés, N_0 : nombre total de site favorables (cm^{-2}), ρ : masse volumique du métal déposé ($g\ cm^{-3}$)

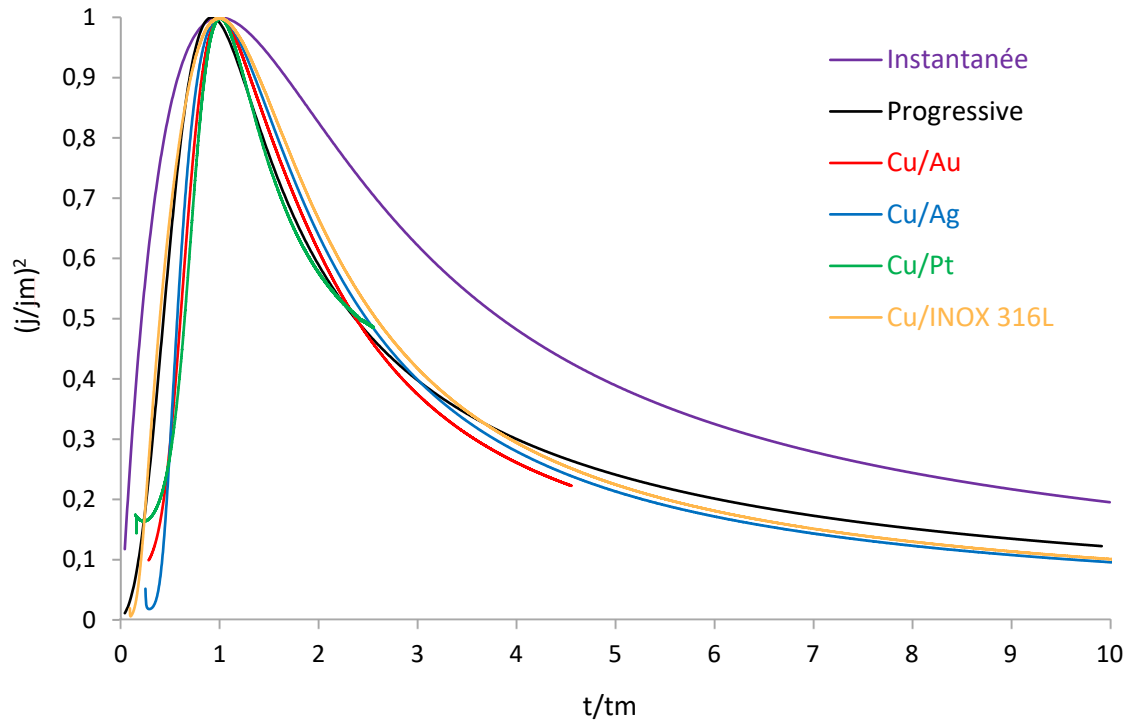


Figure III - 7 : Comparaison des modèles théoriques de nucléation instantanée (en violet) et nucléation progressive (en noir) avec les chronoampérogrammes adimensionnalisés enregistrés dans CuSO_4 à $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ dans H_2SO_4 (1 mol L^{-1}) sur les électrodes Au (rouge à $E = -0.14 \text{ V}$), Ag (bleu à $E = -0.2 \text{ V}$), Pt (vert à $E = -0.15 \text{ V}$) et INOX 316L (Jaune à $E = -0.2 \text{ V}$) (Référence = Ag/AgCl/Cl^- (3M))

La Figure III - 7, comparant les modèles théoriques de nucléation instantanée et nucléation progressive avec les chronoampérogrammes adimensionnalisés obtenus pour les 4 substrats testés, indique que la nucléation du cuivre est progressive sur Au, Ag, Pt et l'INOX 316 L. La même stratégie de dépôt a donc été appliquée pour l'ensemble des substrats.

III.2 – Optimisation des paramètres de dépôt

III.2.1 - Potentiel de dépôt de Cu

Dans le cas d'une nucléation progressive, Massot *et al.* ont montré que la rugosité du dépôt dépend de la densité de courant et donc de la surtension imposée pour le dépôt [45]. Les plus fortes rugosités de surface sont obtenues pour les faibles surtensions (dépôt disparate de petits plots métalliques de tailles inhomogènes) et les fortes surtensions (aspérités hétérogènes de surface du métal déposé

recouvrant complètement la surface du substrat). Les surtensions intermédiaires conduisent à des dépôts homogènes de faibles rugosités.

Ainsi, dans les conditions expérimentales de l'étude, pour obtenir la plus grande surface d'électrode bimétallique, une faible surtension, très proche de la surtension de nucléation, a été appliquée, favorisant ainsi le dépôt de petits plots de cuivre. Le Tableau III - 2 rassemble les valeurs absolues des surtensions de nucléation observées et les potentiels appliqués pour la réalisation des dépôts de cuivre en mode potentiostatique pour chacun des substrats.

Tableau III - 2 : Surtensions de nucléation et potentiels de dépôt du cuivre sur les différents substrats testés

	Au	Ag	Pt	INOX 316L
$ \eta _{\text{nucléation}}$ (mV)	180	210	200	250
$E_{\text{dépôt Cu}}$ (V / Ag/AgCl/Cl ⁻ (3M))	-0,14	-0,18	-0,17	-0,21

III.2.2 - Charge optimale de dépôt

Comme précédemment réalisé pour le couple Ag/Au, une étude de l'influence de la densité de charge de dépôt du cuivre a été réalisée sur un substrat en or, en comparant les réponses obtenues pour la détection de 1 mmol L⁻¹ de nitrates dilués dans de l'eau de mer artificielle par voltammétrie à vague carrée (Figure III - 8). Il est à remarquer sur la Figure III - 8 que la détection des nitrates est possible, sans nécessité d'acidifier la solution, contrairement à l'électrode Ag/Au, illustrant déjà les potentialités du cuivre.

Les densités de courant du pic de réduction des nitrates reportées en fonction de la densité de charge du dépôt de Cu sur le Volcano Plot en insert de la Figure III - 8, montrent comme attendu une augmentation du signal lié à l'augmentation de la surface active de l'électrode jusqu'à un maximum correspondant à la densité de charge optimale du dépôt, avant une décroissance du signal lié à une diminution de la rugosité de surface (augmentation de la taille des nanoparticules et coalescence). La densité de charge optimale de dépôt déterminée à l'intersection des 2 droites du Volcano plot est de :

$$|q_{\text{optimale Cu/Au}}|_{\text{Volcano}} = 23,5 \text{ mC cm}^{-2}.$$

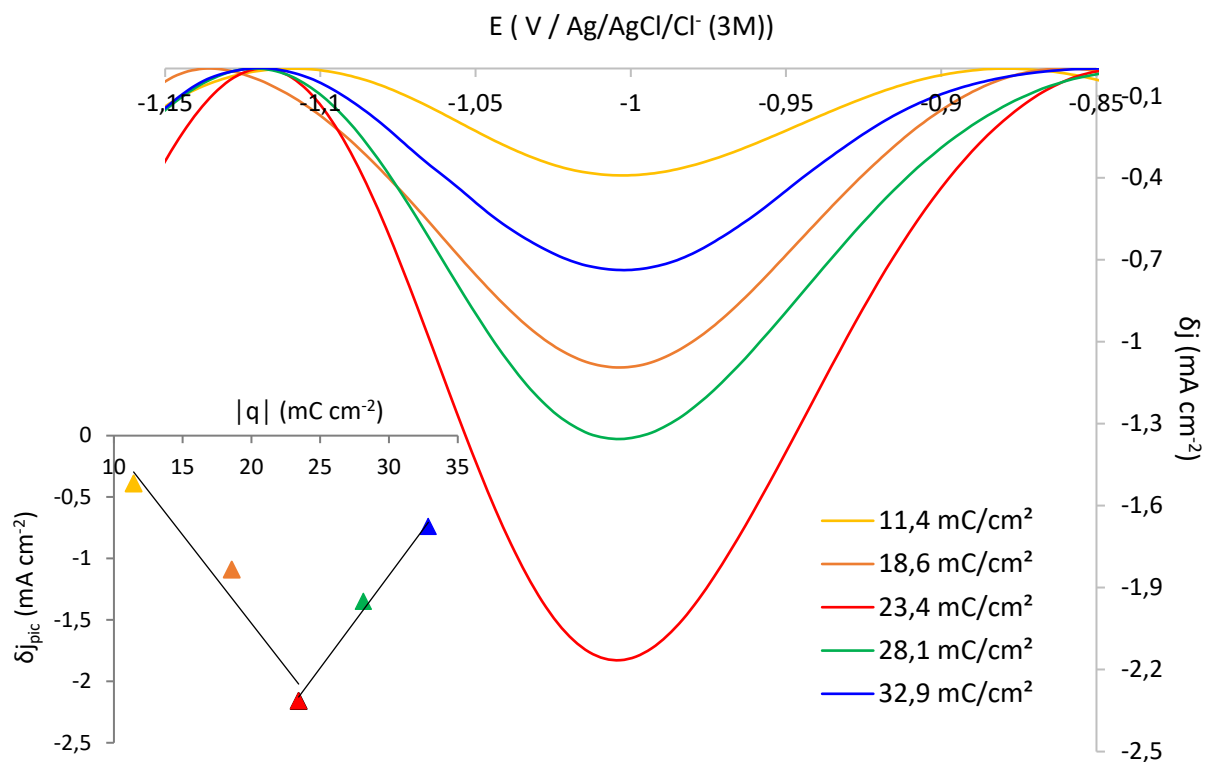


Figure III - 8 : Influence de la densité de charge de dépôt de Cu sur Au sur les voltammogrammes à vague carrée ($f = 100$ Hz, $A = 60$ mV, $E_{step} = 5$ mV) obtenus dans de l'eau de mer artificielle contenant 1 mmol L^{-1} de KNO_3 – Insert : Volcano plot $\delta j_{pic} = f(|q|)$

Ces travaux de thèse ont mis au point et validé une méthode originale pour déterminer la charge optimale de dépôt, en s'affranchissant de l'étape longue et fastidieuse de la construction du Volcano plot. D'après la loi de Faraday (Eq. III - 3), la densité de charge optimale est directement déterminée sur le chronoampérogramme enregistré dans la solution contenant les ions Cu^{2+} , par simple intégration de l'aire sous la courbe $j = f(t)$ jusqu'au point caractéristique t_m , j_m , où la surface active de l'électrode est maximale.

$$|q|_{\text{optimale}} = \int_{t=0}^{t_m} j \cdot dt \quad (\text{III} - 3)$$

Dans le cas du substrat or, l'intégration du chronoampérogramme de la Figure III - 6 de $t=0$ à t_m donne une densité de charge optimale de :

$$|q_{\text{optimale Cu/Au}}|_{\text{Faraday}} = 23,5 \text{ mC cm}^{-2},$$

identique à celle obtenue par la méthode du Volcano plot, validant la méthode de détermination.

Cette méthode a été appliquée à l'ensemble des substrats testés. Les valeurs absolues des densités de charge optimale, rassemblées dans le Tableau III - 3, montrent une influence du substrat d'électrode sur les conditions de dépôt où les charges optimales varient selon le substrat et ce malgré un mode de nucléation progressive commun à tous les matériaux d'électrode testés.

Ces travaux ont fait l'objet d'une publication dans Journal of Electroanalytical Chemistry en 2022 [46].

Tableau III - 3 : Valeurs absolues des densités de charge optimale du dépôt de cuivre déterminées par intégration des chronoampérogrammes de $t=0$ à t_m , enregistrés dans une solution de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de CuSO_4 dans 1 mol L^{-1} de H_2SO_4 , désaérée, sur Au, Ag, Pt et INOX 316L

	Au	Ag	Pt	INOX 316L
$ q_{\text{optimale dépôt Cu}} (\text{mC cm}^{-2})$	23,5	11,9	51,8	16,6

III.3 – Evaluation des performances Cu/Ag : détection NO_3^- dans des matrices d'eaux naturelles

Les performances des électrodes bimétalliques, optimisées selon le protocole de dépôt défini précédemment, ont été étudiées vis-à-vis de la détection des nitrates dans des matrices d'eau de mer et d'eau douce.

III.3.1 - Détection dans l'eau de mer

III.3.1.1 - Etalonnage et évaluation de la sensibilité

La droite d'étalonnage correspondant aux densités de courant différentiel du pic de réduction des nitrates des voltammogrammes à vague carrée en fonction de la concentration en nitrate contenus dans de l'eau de mer artificielle, obtenue sur l'électrode Cu/Au est présentée sur la Figure III - 9. Comme précédemment observé pour les silicates au Chapitre II, une rupture de pente est observée lorsque la concentration en nitrates augmente, indiquant un changement de mécanisme de réduction des nitrates en lien avec l'adsorption des nitrates à la surface de l'électrode avant leur réduction. Ce comportement est également enregistré sur les autres couples bimétalliques (Cu/Ag, Cu/Pt, Cu/INOX).

Cette rupture de pente n'est cependant pas problématique ; selon la densité de courant différentiel mesurée, l'équation de la droite d'étalonnage appropriée est utilisée pour remonter à la concentration en nitrates en solution.

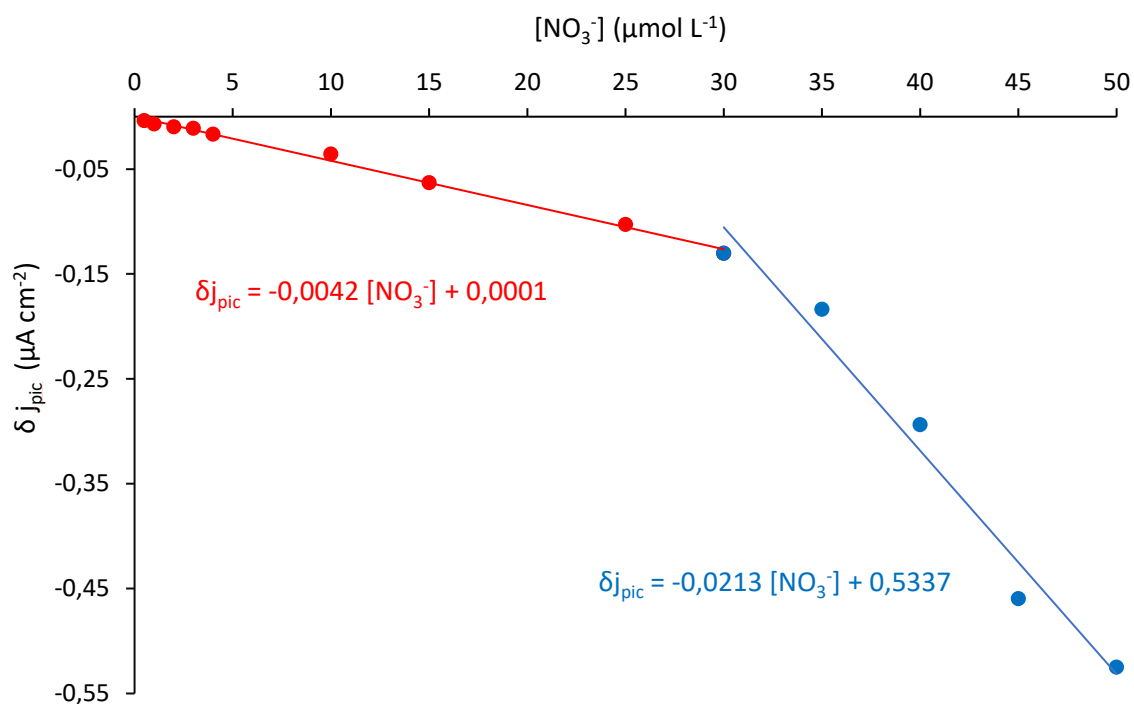


Figure III - 9 : Droite d'étalonnage obtenue sur l'électrode Cu/Au dans de l'eau de mer artificielle contenant entre 0,5 et 50 $\mu mol L^{-1}$ de nitrates

Les plus faibles concentrations quantifiées (premier point aligné sur la droite d'étalonnage, dénommées LOQ) sont également sensiblement identiques sur les différents substrats avec $LOQ_{Cu/Au-Cu/Pt} = 0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$ et $LOQ_{Cu/Ag-Cu/INOX} = 1 \mu\text{mol L}^{-1}$. Ces performances sont tout à fait satisfaisantes et concurrentielles à celles atteintes par le capteur commercial optique-UV SUNA (Submersible Ultraviolet Nitrate Analyzer) et prometteuses pour la suite des développements du capteur NESS [47,48].

Bien que les substrats Au et Pt aient montré une meilleure sensibilité que Ag et INOX, le couple Cu/Ag a été choisi dans la suite de la thèse, pour l'évaluation de la justesse des mesures et les expériences en eaux douces, ce couple étant plus stable dans le temps que les autres substrats et également plus facile et plus rapide à mettre en œuvre (un nettoyage électrochimique chronophage est nécessaire sur l'or et le platine).

III.3.1.2 - Justesse de mesure

Des échantillons d'eaux de mer naturelles certifiées (Certified Reference Material (CRM)) ont été analysés afin d'évaluer la justesse des mesures ainsi que la méthode de détermination de la concentration en nitrates via un étalonnage réalisé dans une matrice différente que l'échantillon réel analysé. Ces échantillons d'eaux océaniques naturelles, stabilisées, de concentrations en sels nutritifs (nitrate, nitrite, silicate, phosphate) précisément connues sont fournis par l'entreprise KANSO, Japon [49]. Les compositions des différents lots analysés sont rassemblées dans le Tableau III - 4. Seules les concentrations en nitrates $[\text{NO}_3^-]_{\text{réf}}$ sont indiquées ainsi que les concentrations en nitrates $[\text{NO}_3^-]_{\text{exp}}$ déterminées à partir des densités de courant du pic de réduction des nitrates mesurées sur les voltammogrammes à vague carrée enregistrés et l'équation de la droite d'étalonnage correspondante de la Figure III - 9. La justesse des mesures a été calculée selon l'équation III-4 :

$$\text{Justesse (\%)} = 100 - \frac{|\text{[NO}_3^-]_{\text{exp}} - \text{[NO}_3^-]_{\text{réf}}|}{\text{[NO}_3^-]_{\text{réf}}} (\%) \quad (\text{III} - 4)$$

Tableau III - 4 : Salinité, densité, concentration en nitrates de référence et déterminée expérimentalement et justesse de mesure des lots de CRM analysés

Echantillon	Salinité (psu [*])	Densité (20°C)	Conductivité (mS cm ⁻¹)	[NO ₃ ⁻] _{réf} (μmol L ⁻¹)	[NO ₃ ⁻] _{exp} (μmol L ⁻¹)	Justesse
Lot CM	34,414	1,0243	~52	34,0	35,1	97 %
Lot CN	34,536	1.0244		44,7	47,2	94 %
Lot CP	34,398	1,0243		25,4	27,8	91 %

Les justesses obtenues sont satisfaisantes, validant la méthode de détermination de la concentration. Une étude de répétabilité approfondie et des tests statistiques poussés devront être réalisés.

III.3.2 - Détection dans l'eau douce potable

N'ayant pas à disposition une matrice d'eau douce exempte de nitrates (eau douce dite artificielle), la méthode des ajouts dosés a été utilisée dans la thèse pour calibrer le système et l'extrapolation de l'ordonnée à l'origine permet la détermination de la concentration en nitrates dans l'échantillon analysé.

Dans un premier temps une analyse d'une eau minérale Mont Roucous® de pH = 7 et de conductivité $\sigma = 55,3 \mu\text{S cm}^{-1}$, dont la concentration en nitrates est connue ($[\text{NO}_3^-]_{\text{réf}} = 32 \mu\text{mol L}^{-1}$) a été réalisée afin d'évaluer la justesse de mesure de la méthode. L'ordonnée à l'origine de la relation linéaire entre la densité de courant différentiel du pic de réduction des nitrates en fonction de la concentration en nitrates ajoutée à l'échantillon indiquée sur la Figure III - 10 (A), a donné une concentration $[\text{NO}_3^-]_{\text{exp}} = 32 \mu\text{mol L}^{-1}$, identique à la valeur de référence annoncée.

De la même façon, une analyse de l'eau de consommation de la ville de Toulouse, de conductivité $290 \mu\text{S cm}^{-1}$ et pH = 7,76, a été réalisée (Figure III - 10 (B)), donnant une concentration en nitrates $[\text{NO}_3^-]_{\text{Toulouse}} = 40,5 \mu\text{mol L}^{-1}$. Une analyse conjointe du même échantillon, réalisée par chromatographie ionique, a donné une concentration identique aux incertitudes près de nitrates $[\text{NO}_3^-]_{\text{Chromato}} = 46 \mu\text{mol L}^{-1}$.

* psu : practical salinity unit

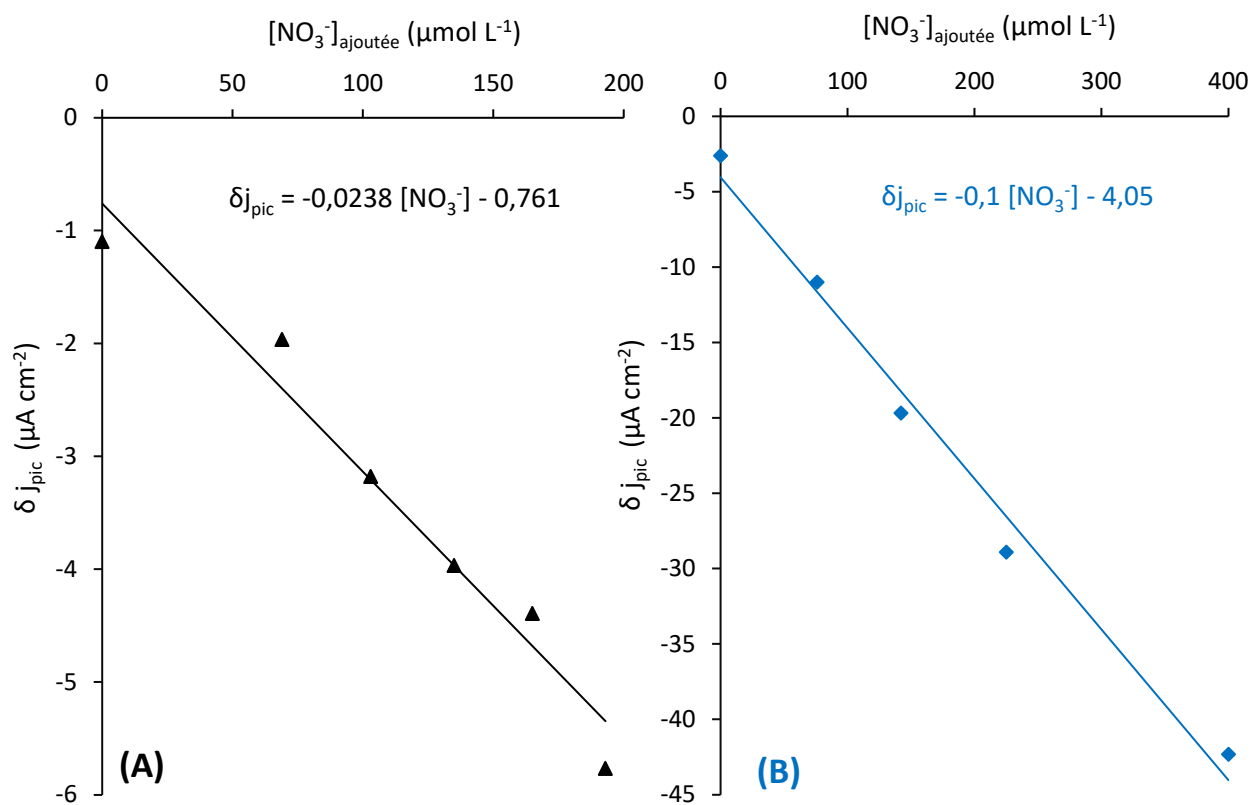


Figure III - 10 : Relation linéaire entre la densité de courant différentiel du pic de réduction des nitrates en fonction de la concentration en nitrates ajoutée dans (A) l'eau minérale Mont Roucous® et (B) l'eau de la ville de Toulouse

Ces résultats sont très prometteurs pour la suite des développements et l'élaboration d'un capteur dans les eaux douces. En effet, malgré la faible conductivité du milieu, 1000 fois moins que la conductivité de l'eau de mer, l'électrode Cu/Ag a permis de doser une concentration en nitrates bien plus faible que la limite de potabilité (*i.e.* $800 \mu mol L^{-1}$) sans pré-traitement de l'échantillon.

IV – Conclusions

La thèse de Sherif Abed a permis de montrer que les électrodes bimétalliques à base de cuivre réalisées selon un procédé de dépôt électrolytique optimisé pour un mode de nucléation progressive, permettent le dosage des nitrates sans pré-traitement des échantillons d'eaux de mer et d'eaux douces potables à des concentrations compatibles avec les objectifs fixés.

Si la potentialité d'utiliser ces électrodes pour l'élaboration du capteur NESS a été démontrée lors de cette thèse, une étude de répétabilité, une détermination rigoureuse et statistique de la limite de quantification et une évaluation de la robustesse du matériau doivent être réalisées.

Ces travaux ont également montré l'importance majeure du cuivre quant au dosage des nitrates et, à contrario, l'influence limitée du substrat d'électrode qui laisserait à penser qu'une surface de cuivre de haute densité serait suffisante pour atteindre les performances demandées en termes de sensibilité.

Il serait donc intéressant de travailler sur le matériau cuivre en tant qu'électrode de travail massive en augmentant sa surface active via une modification contrôlée de sa rugosité par les procédés électrochimiques. D'autres matériaux émergents sont aussi de plus en plus étudiés, composés de dopage hétéroatomes au sein de la maille cristalline du matériau lui apportant de nouvelles propriétés électrocatalytiques. Ces perspectives à ce travail sont directement en adéquation avec mes perspectives de carrière qui sont discutées dans la partie Projets & Perspectives de ce manuscrit.

Références bibliographiques

- [1] B.B. Ward, D.G. Capone, J.P. Zehr ; What's New in the Nitrogen Cycle? *Oceanography* 20 (2007) 101-109.
- [2] T.P. Burt, N.J.K. Howden, F. Worrall, M.J. Whelan ; Long-term monitoring of river water nitrate: how much data do we need? ; *Journal of Environmental Monitoring* 12 (2010) 71-79.
- [3] Directive 98/83/CE du Conseil du 3 Novembre 1998 relative à la qualité des eaux destinées à la consommation humaine ; <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:31998L0083>.
- [4] K.S. Johnson, L.J. Coletti ; *In situ* Ultraviolet Spectrophotometry for High Resolution and Long-Term Monitoring of Nitrate, Bromide and Bisulfide in the Ocean ; *Deep Sea Research Part I* 49 (2002) 1291-1305.
- [5] K. S. Johnson, L. J. Coletti, H. W. Jannasch, C. M. Sakamoto, D. D. Swift, S. C. Riser, Long-Term Nitrate Measurements in the Ocean Using the *in situ* Ultraviolet Spectrophotometer: Sensor Integration into the APEX Profiling Float ; *Journal of Atmospheric and Oceanic Technology* 30 (2013) 1854-1866.
- [6] K.S. Johnson, J.N. Plant, L. Coletti, H.W. Jannasch, C.M. Sakamoto, S.C. Riser, D.D. Swift, N.K. Williams, E. Boss, N. Haëntjens, L.D. Talley, J.L. Sarmiento ; Biogeochemical Sensor Performance in the SOCCOM Profiling Float Array ; *Journal of Geophysical Research: Oceans* 122 (2017) 6416-6436.
- [7] A.D. Beaton, C.L. Cardwell, R.S. Thomas, V.J. Sieben, F.E. Legiret, E.M. Waugh, P.J. Statham, M.C. Mowlem, H. Morgan ; Lab-on-Chip Measurement of Nitrate and Nitrite for *in situ* Analysis of Natural Waters ; *Environmental Science & Technology* 46 (2012) 9548-9556.
- [8] A.D. Beaton, A.M. Schaap, R. Pascal, R. Hanz, U. Martincic, C.L. Cardwell, A. Morris, G. Clinton-Bailey, K. Saw, S.E. Hartman, M.C. Mowlem ; Lab-on-Chip for *In situ* Analysis of Nutrients in the Deep Sea ; *ACS Sensors* 7 (2022) 89-98.
- [9] N.G. Carpenter, D. Pletcher ; Amperometric method for the determination of nitrate in water ; *Analytica Chimica Acta* 317 (1995) 287-293.
- [10] H. Ryu, D. Thompson, Y. Huang, B. Li, Y. Lei ; Electrochemical sensors for nitrogen species: A review ; *Sensors and Actuators Reports* 2 (2020) 100022.
- [11] Inam-Ul-Haque, M. Tariq ; Electrochemical Reduction of Nitrate: A Review ; *Journal of Chemical Society of Pakistan* 32 (2010) 396-418.
- [12] G.E. Dima, A.C.A. de Voors, M.T.M. Koper ; Electrocatalytic reduction of nitrate at low concentration on coinage and transition-metal electrodes in acid solutions ; *Journal of Electroanalytical Chemistry* 554-555 (2003) 15-23.
- [13] D. Pletcher, Z. Poorabedi ; The reduction of nitrate at a copper cathode in aqueous acid ; *Electrochimica Acta* 24 (1979) 1253-1256.
- [14] N. Aouina, H. Cachet, C. Debiemme-Chouvy, T.T. Mai Tran ; Insight into the electroreduction of nitrate ions at a copper electrode, in neutral solution, after determination of their diffusion coefficient by electrochemical impedance spectroscopy ; *Electrochimica Acta* 55 (2010) 7341-7345.

- [15] V. Rosca, M. Duca, M.T. de Groot, M.T.M. Koper ; Nitrogen Cycle Electrocatalysis ; Chemical Reviews 109 (2009) 2209-2244.
- [16] M.T. de Groot, M.T.M. Koper ; The influence of nitrate concentration and acidity on the electrocatalytic reduction of nitrate on platinum ; Journal of Electroanalytical Chemistry 562 (2004) 81-94.
- [17] G.E. Dima, G.L. Beltramo, M.T.M. Koper ; Nitrate reduction on single-crystal platinum electrodes ; Electrochimica Acta 50 (2005) 4318-4326.
- [18] F.M. Cuibus, A. Ispas, A. Bund, P. Ilea ; Square wave voltammetric detection of electroactive products resulting from electrochemical nitrate reduction in alkaline media ; Journal of Electroanalytical Chemistry 675 (2012) 32-40.
- [19] R. Lange, E. Maisonhaute, R. Robin, V. Vivier ; On the kinetics of the nitrate reduction in concentrated nitric acid ; Electrochemistry Communications 29 (2013) 25-28.
- [20] J. Davis, M.J. Moorcroft, S.J. Wilkins, R.G. Compton, M.F. Cardosi ; Electrochemical detection of nitrate and nitrite at a copper modified electrode ; Analyst 125 (2000) 737-742.
- [21] U. Prüsse, K.-D. Vorlop ; Supported bimetallic palladium catalysts for water-phase nitrate reduction ; Journal of Molecular Catalysis A: Chemical 173 (2001) 313-328.
- [22] K. Fajerweg, V. Ynam, B. Chaudret, V. Garçon, D. Thouron, M. Comtat ; An original nitrate sensor based on silver nanoparticles electrodeposited on a gold electrode ; Electrochemistry Communications 12 (2010) 1439-1441.
- [23] J. Liang, Y. Zheng, Z. Liu ; Nanowire-based Cu electrode as electrochemical sensor for detection of nitrate in water ; Sensors and Actuators B: Chemistry 232 (2016) 336-344.
- [24] D. Chen Legrand, C. Barus, V. Garçon ; Square Wave Voltammetry Measurements of Low Concentrations of Nitrate Using Au/AgNPs Electrode in Chloride Solutions ; Electroanalysis 29 (2017) 1-7.
- [25] L.-X. Li, W.-J. Sun, H.-Y. Zhang, J.-L. Wei, S.-X. Wang, J.-H. He, N.-J. Li, Q.-F. Xu, D.-Y. Chen, H. Li, J.-M. Lu ; Highly efficient and selective nitrate electroreduction to ammonia catalyzed by molecular copper catalyst@Ti3C2TX MXene ; Journal of Materials Chemistry A 9 (2021) 21771-21778.
- [26] M. Sun, G. Wu, L. Dai, M. Oschatz, Q. Qin ; A self-supported copper/copper oxide heterostructure derived from a copper-MOF for improved electrochemical nitrate reduction ; Catalysis Science & Technology 12 (2022) 6572-6580.
- [27] C. Jiang, Y. He, Y. Liu ; Recent advances in sensors for electrochemical analysis of nitrate in food and environmental matrices ; Analyst 145 (2020) 5400-5413.
- [28] P. L. Redmond, A. J. Hallock, L. E. Brus ; Electrochemical Ostwald Ripening of Colloidal Ag Particles on Conductive Substrates ; Nano Letters 5 (2005) 131-135.
- [29] N. Serizawa, Y. Katayama, T. Miura ; Ag(I)/Ag electrode reaction in amide-type room-temperature ionic liquids ; Electrochimica Acta 56 (2010) 346-351.
- [30] F. Wang, R. Han, G. Liu, H. Chen, T. Ren, H. Yang, Y. Wen ; Construction of polydopamine/silver nanoparticles multilayer film for hydrogen peroxide detection ; Journal of Electroanalytical Chemistry 706 (2013) 102-107.

- [31] F. Calle-Vallejo, M. Huang, J. B. Henry, M. T. M. Koper, A. S. Bandarenka ; Theoretical design and experimental implementation of Ag/Au electrodes for the electrochemical reduction of nitrate ; *Physical Chemistry Chemical Physics* 15 (2013) 3196-3202.
- [32] A. B. Laursen, A. S. Varela, F. Dionigi, H. Fanchiu, C. Miller, O. L. Trinhammer, J. Rossmeils, S. Dahl ; Electrochemical Hydrogen Evolution : Sabatier's Principle and the Volcano Plot ; *Journal of Chemical Education* 89 (2012) 1595-1599.
- [33] M.-P.N. Bui, J. Brockgreitens, S. Ahmed, A. Abbas ; Dual detection of nitrate and mercury in water using disposable electrochemical sensors ; *Biosensors Bioelectronics* 85 (2016) 280-286.
- [34] A.M. Stortini, L.M. Moretto, A. Mardegan, M. Ongaro, P. Ugo ; Arrays of copper nanowire electrodes: Preparation, characterization and application as nitrate sensor ; *Sensors and Actuators B* 207 (2015) 186-192.
- [35] B. Valeur ; Propriétés des éléments ; *Techniques de l'ingénieur K 80* (2003) 1-11.
- [36] R.C. Weast, S.M. Selby ; *Handbook of Chemistry and Physics* 48ème édition, CRC Press, Cleveland, (1967-1968) p. F-146.
- [37] K. Bouzek, M. Paidar, A. Sadilkova, H. Bergmann ; Electrochemical reduction of nitrate in weakly alkaline solutions ; *Journal of Applied Electrochemistry* 31 (2001) 1185-1193.
- [38] B. Hafezi, M.R. Majidi ; A sensitive and fast electrochemical sensor based on copper nanostructures for nitrate determination in foodstuffs and mineral waters ; *Analytical Methods* 5 (2013) 3552-3556.
- [39] J.F. Su, I. Ruzybayev, I. Shah, C.P. Huang ; The electrochemical reduction of nitrate over micro-architected metal electrodes with stainless steel scaffold ; *Applied Catalysis B: Environmental* 180 (2016) 199-209.
- [40] E. Pérez-Gallent, M.C. Figueiredo, I. Katsounaros, M.T.M. Koper ; Electrocatalytic reduction of Nitrate on Copper single crystals in acidic and alkaline solutions ; *Electrochimica Acta* 227 (2017) 77-84.
- [41] X. Wang, M. Zhu, G. Zeng, X. Liu, C. Fang, C. Li ; A three-dimensional Cu nanobelt cathode for highly efficient electrocatalytic nitrate reduction ; *Nanoscale* 12 (2020) 9385-9391.
- [42] J.F. Tan, A. Anastasi, S. Chandra ; Electrochemical detection of nitrate, nitrite and ammonium for on-site water quality monitoring ; *Current Opinion in Electrochemistry* 32 (2022) 100926.
- [43] G. Gunawardena, G. Hills, I. Montenegro, B. Scharifker ; Electrochemical nucleation Part I. General considerations ; *Journal of Electroanalytical Chemistry* 138 (1982) 225-239.
- [44] B. Scharifker, G. Hills ; Theoretical and experimental studies of multiple nucleation ; *Journal of Electrochimica Acta* 28 (1983) 879-889.
- [45] L. Massot, P. Chamelot, P. Palau, P. Taxil ; Electrocristallisation of tantalum in molten fluoride media ; *Electrochimica Acta* 50 (2005) 5408-5413.
- [46] S. Abed, M. Gibilaro, P. Chamelot, A. David, C. Barus, L. Massot ; The optimization of bimetallic electrodes' sensivity using copper nucleation on metallic subtrates to detect nitrates in seawater ; *Journal of Electroanalytical Chemistry* 918 (2022) 116497.
- [47] <https://www.seabird.com/deep-suna-ocean-nitrate-sensor/product?id=60762467724>

[48] <https://www.ott.com/fr-fr/produits/la-qualite-de-leau-71/sea-bird-scientific-suna-optical-nitrate-sensor-1737/>

[49] H. Ota, H. Mitsuda, M. Kimura, T. Kitao ; Reference Materials for Nutrients in Seawater: Their Development and Present Homogeneity and Stability. in: Comparability of nutrients in the world's ocean, (Eds.) M. Aoyama, A.G. Dickson, D.J. Hydes, A. Murata, J.R. Oh, P. Roose, E.M.S. Woodward, Tsukuba, JAPAN: MOTHER TANK, 2010. pp.11-30, ISBN978-4-9904863-0-3



The optimization of bimetallic electrodes' sensitivity using copper nucleation on metallic substrates to detect nitrates in seawater

S. Abed^{a,b}, M. Gibilaro^a, P. Chamelot^a, A. David^c, C. Barus^{a,b,*}, L. Massot^a

^a Laboratoire de Génie Chimique UMR 5503, Département Procédés Electrochimiques, Université Paul Sabatier, 118 route de Narbonne, Toulouse Cedex 31062, France

^b Laboratoire d'Etudes en Géophysique et Océanographie Spatiales UMR 5566, Université de Toulouse, CNRS, CNES, IRD, UPS, 18 Avenue Edouard Belin, Toulouse Cedex 9 31401, France

^c nke instrumentation, 6 rue Gutenberg – ZI Kérandré, Hennebont 56700, France

ARTICLE INFO

Keywords:

Electrocrystallisation
Bimetallic electrodes
Chronoamperometry
Progressive nucleation
Square wave voltammetry

ABSTRACT

The aim of this work is to highlight the beneficial impact of the nucleation mode study on controlling the electrodeposition of a metal on a substrate, in order to form high sensitivity bimetallic electrodes. Actually, optimizing the electrodeposition operating conditions allows generating the largest active surface, and so, increasing electrode sensitivity.

For this purpose, the nucleation phenomena and the initial growth of copper nuclei on gold, platinum and stainless steel 316L electrodes were investigated using cyclic voltammetry (CV) and chronoamperometry in aqueous media. The experimental results were compared to theoretical models for the two possible nucleation modes: instantaneous and progressive.

Chronoamperometric results showed that the electrodeposition process involves progressive nucleation for copper on the three substrates, which was confirmed by scanning electron microscopy (SEM).

Optimal operating conditions were determined for the preparation of the highest active surface area. Subsequently, copper deposition runs were carried out on the three electrode substrates. The formed bimetallic electrodes were tested for their ability to detect low nitrate concentration in artificial seawater using square wave voltammetry (SWV).

1. Introduction

The present work focuses on studying the first instant of copper nuclei formation on the electrode surface. The growth of these nuclei over time is studied in order to determine the optimum operating conditions allowing to yield the highest specific surface area as well as a sensitive and stable bimetallic electrode and to put forward a novel effective electrodeposition process. Factors influencing deposit quality must be considered, principally the potential and the cutoff charge. For this intent, the nucleation phenomena of copper on gold, platinum and stainless steel 316L substrates was investigated using cyclic voltammetry and chronoamperometry. The electrodeposition of copper [1] and its growth on metallic substrates have been the topic of several studies [2–6]. Thus, no previous study deeply elaborated the electrocrystallisation of copper on these three substrates.

In the first part, nucleation overpotentials were evidenced by cyclic voltammetry. Chronoamperometry studies were performed, and the experimental results were compared to theoretical plot to determine nucleation mode: instantaneous or progressive [7,8]. Afterwards, the

germination rates were determined and the strategy (electrochemical parameters) for copper electrodeposition was deduced in order to increase the specific surface area of the electrode.

In the second part, the obtained bimetallic electrodes were employed to detect species requiring high sensitivity identification tools, such as nitrates in seawater. In the open ocean, the concentration of nitrates can drop from $50 \mu\text{mol L}^{-1}$ to as little as few nanomolars [9]. Surface waters are very depleted in nitrates ($< 10 \mu\text{mol L}^{-1}$).

The conventional method used to detect nitrates is colorimetry based on the Griess reaction requiring the addition of liquid reagents [10–11]. Lab on chip technology allows the miniaturization of the sensor and consequently decreases the volume of the reagent but these sensors still need frequent intervention to change reagents bags limiting long term deployment [12–13]. There is also commercial UV-absorbance nitrate sensor: SUNA that directly measure the concentration without pre-treatment [14]. However, interference issues with bromide ions, carbonates and dissolved organic matter are encountered and the limit of detection is $2.4 \mu\text{mol L}^{-1}$. Electrochemistry is suitable for *in situ* applications because it does not require pre-treatment of

* Corresponding author.

E-mail address: carole.barus@univ-tlse3.fr (C. Barus).

<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2022.116497>

Received 29 March 2022; Received in revised form 17 May 2022; Accepted 3 June 2022

Available online 6 June 2022

1572-6657/© 2022 Elsevier B.V. All rights reserved.

the sample, offers a fast response time, high selectivity and allows small sizes sensor design and low energy consumption.

Various approaches have been pursued to study nitrate electroreduction with a large number of metal substrates, such as Pd, Pt, Rh, Ru, Ir, Cd, Pb, Ag, Ti, Au, Sn, Ni, Zn, alloys of Cu....[15–22]. The use of metallic bare electrodes for direct nitrates detection displayed weak sensitivity [23]. Few studies have demonstrated that nitrate electroreduction is more efficient on bimetallic electrodes [23–27], as the signal is boosted due to the increase of the specific surface area of the electrode.

Fajerwerger *et al.* [23] have already operated gold modified with silver nanoparticles electrode (Au/AgNPs) to detect nitrate in sodium chloride solution, using a charge, Q , lower than the theoretical one corresponding to a silver monolayer, and demonstrated the worthwhile potential of bimetallic electrode use. However, the limit of detection (LOD) of $10 \mu\text{mol L}^{-1}$ obtained was still too high for marine application. Later, Legrand *et al.* studied the influence of the cutoff charge for silver electrodeposition on gold over the electrode sensitivity and reached a LOD of $0.39 \mu\text{mol L}^{-1}$ of nitrate in sodium chloride solution [27]. However, some repeatability issues were encountered.

The aim of this article is to highlight the necessity of controlling the electrodeposition process and optimizing the operation conditions in order to increase the sensitivity of the electrode.

As reported by several studies, copper is recognized as the best promoter for nitrate electroreduction in comparison with other metals. It was applied as a bare electrode given its resistance to biofouling [18,28,29], and accordingly, was chosen as the electrodeposited metal.

Since gold has previously been demonstrated to be a promising and noble substrate, it was used as a base for the bimetallic electrode.

In order to compare the electroactivity of Au/Cu modified electrode, platinum (Pt) was tested as a comparator substrate due to its similar properties. Stainless steel 316L (SS) was also considered for test alongside gold and platinum due to its low cost compared to the other metals used, as well as its known resistance to corrosion in seawater.

2. Experimental

2.1. Chemicals

All solutions were prepared in MilliQ water (Millipore MilliQ water system).

Nitrate solutions were prepared with KNO_3 (Aldrich 99.999%), dissolved into artificial seawater (pH = 8) made with NaCl ($m = 32.74 \text{ g L}^{-1}$, VWR), NaHCO_3 ($m = 0.172 \text{ g L}^{-1}$, VWR) and $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($m = 7.26 \text{ g L}^{-1}$, VWR).

Copper electrodepositions on gold, stainless steel 316L and platinum surfaces were generated using 0.1 mol L^{-1} of copper sulfate pentahydrate $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (99.995% purity) from Aldrich dissolved in 1 mol L^{-1} of sulfuric acid prepared from a 98% H_2SO_4 EMSURE® (Merck).

2.2. Materials and methods

Electrochemical techniques used were Chronoamperometry, Cyclic Voltammetry and Square Wave Voltammetry. Full electrochemical measurements were carried out with a Metrohm Autolab® PGSTAT 128 N potentiostat controlled by NOVA 2.1.4 software.

A standard three electrodes cell was employed for all experiments. In all cases, the auxiliary electrode was a platinum wire with large surface area and the reference electrode was a double junction Ag/AgCl/KCl 3 M electrode; all the following potentials are given relative to this electrode. Working electrodes were commercial metallic discs ($\Phi =$

6 mm) of gold, platinum and stainless steel 316L (from Goodfellow) modified with copper electrodeposition.

The characterization of copper nuclei deposited on the substrate surface after electrolysis was observed by a Phenom XL scanning electron microscope (SEM) coupled with an energy dispersive spectroscopy (EDS).

2.3. Preparation of working electrodes

The substrate discs underwent an adapted polishing on metallographic polisher (Presi Mécapol), associated with diamond suspension solutions with different granulometries $9 \mu\text{m}$, $3 \mu\text{m}$ and $1 \mu\text{m}$. The duration of polishing on each grain size depends on the initial surface status.

For gold discs, a further electro-polishing was performed in sulfuric acid at 0.5 mol L^{-1} by polarizing the electrode 10 s at +2 V vs (Ag/AgCl/KCl) followed by 10 s at −2 V vs (Ag/AgCl/KCl) to form O_2 and H_2 bubbles respectively. This leads to the removal of all impurities at the surface. Then cycles between 0 V vs (Ag/AgCl/KCl) and 1.5 V vs (Ag/AgCl/KCl) at 100 mV.s^{-1} were recorded until reproducible signals were obtained.

3. Results and discussion

3.1. Determination of nucleation overpotentials

Cyclic voltammograms were plotted on gold, stainless steel, and platinum electrodes in a deaerated copper sulfate solution. Fig. 1. shows the corresponding voltammograms obtained on gold (A), platinum (B) and stainless steel 316L (C) substrates.

A single reduction peak was identified at around −0.2 V vs (Ag/AgCl/KCl) (for gold and platinum substrates), −0.3 V vs (Ag/AgCl/KCl) (for stainless steel) associated with a reoxidation peak at around +0.2 V vs (Ag/AgCl/KCl), +0.15 V vs (Ag/AgCl/KCl) respectively, characteristic of the dissolution of the deposited copper. Copper ions reduction in aqueous media was found to be a single step process exchanging 2 electrons:



These voltammograms highlight the main feature of the electrocrystallisation process which is the signal crossing between forward and backward scanning curves (crossover). This is typical of a solid phase creation via nucleation mechanism on the electrode surfaces.

Furthermore, those voltammograms display nucleation overpotential corresponding to the difference between the potential of the beginning of the copper ion reduction E_{red} indicated with vertical lines on Fig. 1. (first copper nuclei) and the equilibrium potential $E_{(I=0)}$ of Cu^{2+}/Cu system indicated with tangent lines:

$$\eta = E_{\text{red}} - E_{(I=0)} \quad (2)$$

Where, η corresponds to the nucleation overpotential, E_{red} the nuclei formation potential and $E_{(I=0)}$ the equilibrium potential. Nucleation overpotential values on three electrodes are presented in Table 1.

These nucleation overpotential values are key parameters for electrodeposition because they represent the minimal requisite overpotentials during electrolysis.

3.2. Nucleation mode determination

Chronoamperometry is the most suitable electrochemical technique to investigate nucleation phenomena [7,8]. The exploitation of the beginning of the graphs $I = f(t)$ provides information on the nucleation mode and, thus, enables the selection of a convenient process for the deposit. Chronoamperograms were recorded on the three substrates in copper sulfate solution and are presented on Fig. 2.

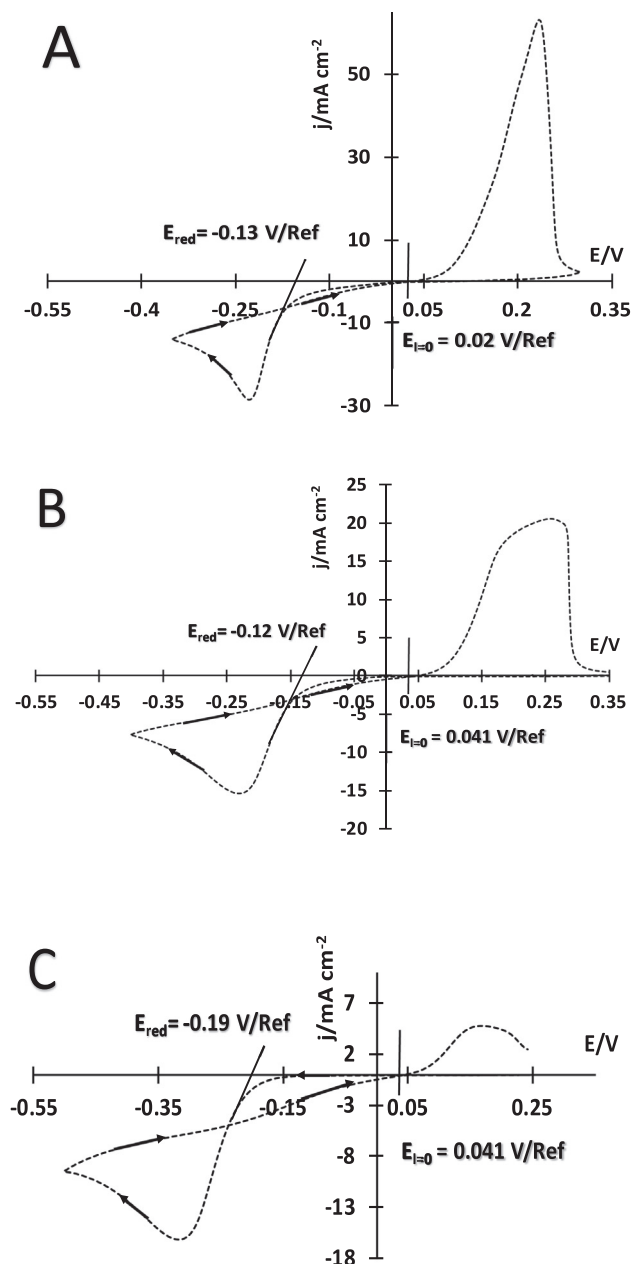


Fig. 1. Cyclic voltammograms of CuSO₄ deaerated; working electrode: Pt (A), Au (B) and SS 316L (C); auxiliary electrode: Pt; reference electrode: Ag/AgCl/KCl; Scan rate = 50 mV s⁻¹.

Numerous overpotentials were tested, and the electrochemical responses showed a good repeatability.

The resultant curves are divided into three parts; the inset of Fig. 2 illustrates those three parts as follows:

- Part I is characterized by a significant decrease of current density, corresponding to the charge of the double layer and the formation of the first copper nuclei on the electrode surface.
- Part II of the chronoamperogram shows a current density increase, as a result of an upsurge of the electrode active surface. This zone represents a particular point at t_m , i_m coordinated where the rate of diffusion is equivalent to the rate of crystal growth. An investigation into part II of the chronoamperogram provides information on the nucleation mode.
- Part III shows a diminution in current density attributed to a limitation of the reaction by the diffusion phenomenon of copper ions Cu²⁺, according to Cottrell's law: $I = f(t^{1/2})$ [30].

In order to identify the copper nucleation mode, Scharifker and Hills established a model based on a non-dimensional intensity and time: $(I/I_m)^2 = f(t/t_m)$ [7]. The mathematical model considers part II and part III of the chronoamperograms defining the two nucleation modes:

- instantaneous nucleation where all the copper nuclei are generated at the same moment at the beginning of the polarization;
- progressive nucleation where new copper nuclei are continuously generated throughout the polarization.

The number of nuclei created versus time is given by the following equation [7,8]:

$$N = N_0(1 - e^{-At}) \quad (3)$$

where N_0 is the total number of favorable sites, A is the nucleation constant for a given site, t is time and N is the nuclei density.

For instantaneous nucleation, $N = N_0$ and the current density at the surface of the electrode is given by the expression [7,8]:

$$j = \frac{nFD^{1/2}C_0}{(\pi t)^{1/2}} \{1 - \exp(-N\pi kDt)\} \quad (4)$$

Where n is the exchanged electrons number, F is the Faraday constant = 96,500 C, D is the diffusion coefficient in m² s⁻¹ and C_0 is the initial concentration in mol L⁻¹,

With,

$$k = \left(\frac{8\pi C_0 M}{\rho}\right)^{1/2} \quad (5)$$

M and ρ are the molar weight in g mol⁻¹ and the specific mass in g L⁻¹, respectively, of copper.

However, for progressive nucleation, $N = AN_0t$, where AN_0 represents the germination rate. The following equation expresses the current density at the surface of the electrode:

$$j = \frac{nFD^{1/2}C_0}{(\pi t)^{1/2}} \left\{ \frac{1 - \exp(-AN_0\pi k'Dt^2)}{2} \right\} \quad (6)$$

Where;

$$k' = \frac{4}{3} \left(\frac{8\pi C_0 M}{\rho}\right) \quad (7).$$

Expressions of I_m and t_m can be deduced by deriving equations 4 and 6 Gunawardena *et al.* [8] transformed these equations by integrating I_m and t_m . The following nondimensional equations are obtained:

Table 1

Overpotential, nucleation rate, cutoff charge density and slope on three substrates.

Electrode	Overpotential (mV)	10 ⁴ AN ₀ (cm ⁻² s ⁻¹)	Cutoff charge density (mC cm ⁻²)	10 ³ (Slope)
Pt/Cu	150	2.53	-51.8	9.61
Au/Cu	161	3.25	-23.5	3.91
SS 316L/Cu	231	3.85	-16.58	1.02

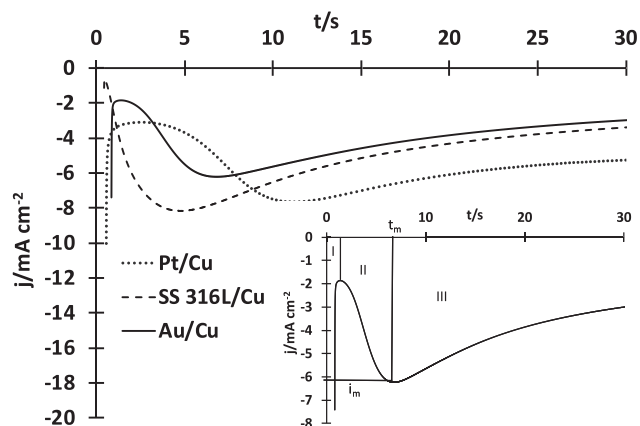


Fig. 2. Chronoamperograms on Pt, Au, SS 316L electrode at $\eta = 150$ mV, 160 mV, 231 mV, respectively in CuSO_4 solution at 0.1 mol L^{-1} . Auxiliary electrode: Pt; reference electrode: Ag/AgCl/KCl Inset: zoom of chronoamperogram on gold electrode $\eta = 150$ mV.

i) for instantaneous nucleation

$$\left(\frac{I}{I_m}\right)^2 = \frac{1.9542}{\frac{t}{t_m}} \left\{ 1 - \exp \left[-1.2564 \left(\frac{t}{t_m} \right) \right] \right\}^2 \quad (8)$$

where;

$$t_m = \frac{1.2564}{N\pi kD} \quad (9)$$

$$I_m = 0.6382nFDC_0(kN)^{\frac{1}{2}} \quad (10)$$

and

$$I_m^2 t_m = 0.1629(nFC_0)^2 D \quad (11)$$

ii) for progressive nucleation

$$\left(\frac{I}{I_m}\right)^2 = \frac{1.2254}{\frac{t}{t_m}} \left\{ 1 - \exp \left[-2.3367 \left(\frac{t}{t_m} \right)^{\frac{2}{3}} \right] \right\}^2 \quad (12)$$

where;

$$t_m = \left(\frac{4.6733}{AN_0\pi k'D} \right)^{\frac{3}{2}} \quad (13)$$

$$I_m = 0.461nFD^{\frac{3}{2}}C_0(k'AN_0)^{\frac{1}{2}} \quad (14)$$

and

$$I_m^2 t_m = 0.2598(nFC_0)^2 D \quad (15)$$

Fig. 3 shows experimental curves $(j j_m^{-1})^2 = f(t t_m^{-1})$ plotted using chronoamperograms data obtained on Fig. 2, compared to the theoretical curves calculated from equation 8 and equation 12.

The experimental data are in agreement with equation 12 for a large t/t_m range proving that the nucleation of copper is progressive, whatever the substrate. Indeed, the geometry of the copper nuclei on the three substrates observed via scanning electron microscopy (SEM) on Fig. 4 shows different sizes of copper particles characteristic of progressive nucleation mode in agreement with experimental results.

The hemispherical form of the copper nuclei was spotted. Besides their uneven sizes signifying that they were not generated at once, they are randomly distributed on the metallic surfaces. This observa-

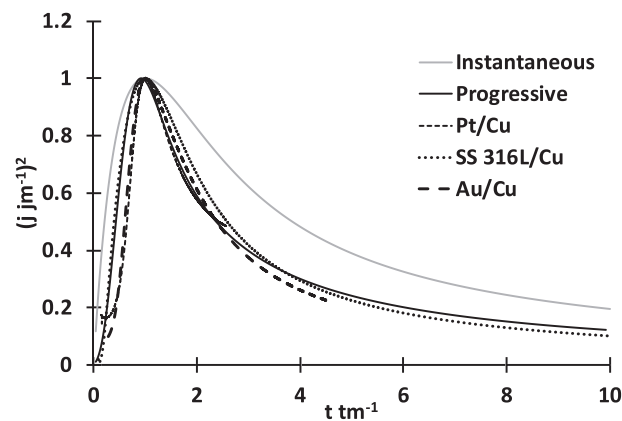


Fig. 3. Comparison of the dimensionless experimental data obtained for the current – time transients on different metals calculated from Fig. 2 with the theoretical model for instantaneous and progressive nucleation. Working electrodes: Pt, Au and SS 316L; auxiliary electrode: Pt; reference electrode Ag/AgCl/KCl.

tion confirms the consistency of copper's progressive nucleation on platinum, gold and stainless steel 316L.

This nucleation mode leads to the formation of new copper nuclei during the whole time of electrolysis. Each nuclei formed, then grew with time.

So the overall growth of the nuclei is controlled by two different rates:

- The germination rate is the number of nuclei generated versus time. The continuous formation of plots leads to a uniform distribution of the electrodeposited metal onto the surface of the electrode.
- The growth rate represents how the size of the nuclei increases with time.

In our case it is mandatory to find a compromise between germination and growth rate aiming to generate heterogeneous small copper particles before covering the entire surface with deposited metal. Masot *et al.* suggested a relation between overpotential and roughness of the electrode [31]. Basically, effects (i) and (ii) are preponderant at:

- Low overpotentials due to the deposition of small metal particles on the substrate,
- And high overpotentials due to the heterogeneous distribution of the deposited metal on the layer formed after filling all available sites.

At intermediate values the roughness is considered satisfactory.

Based on this correlation, in order to obtain the largest bimetallic areas, it is necessary to impose the minimal overpotentials while stirring the solution to renew the diffusion layer and avoid the limitation by diffusion.

3.3. Determination of the nucleation rate AN_0

When the nucleation is progressive, it is possible to calculate the nucleation rate AN_0 after a short duration of electrolysis applying equations 13 and 14 where the value of copper ions' diffusion coefficient at 298.15 K was found around $8 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$. Table 1 reports a difference between copper's nucleation rate on platinum, gold and stainless steel, interpreting that the substrate's nature influences the growth of electrodeposition.

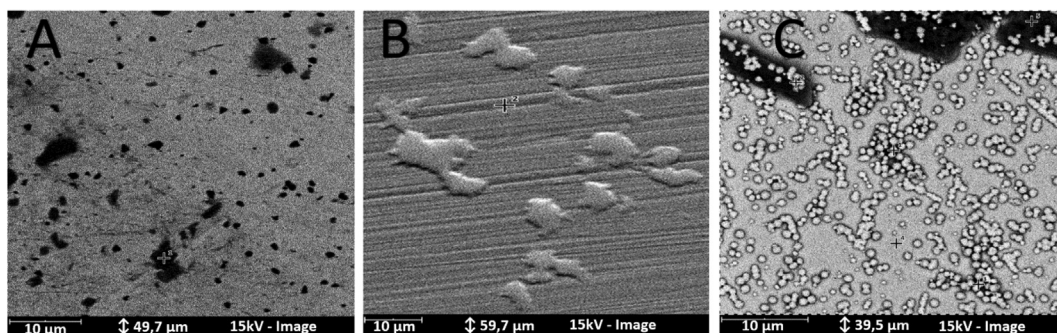


Fig. 4. Scanning electron micrographs of copper nuclei on gold (A), platinum (B) and stainless steel 316L (C) electrodes.

3.4. Validation of the cutoff charge

As mentioned earlier, the optimization of the bimetallic electrode parameter such as cutoff charge and overpotential has an established impact on increasing electrode sensitivity. Hence, in order to improve the electrocatalytic properties of the electrode, it is crucial to control the exact quantity of copper particles deposited on the substrate surface and to, consequently, increase the active surface area.

As previously demonstrated, crystal growth in part II of chronoamperograms (Fig. 2) is linked to an increase of the active surface area up to the maximum point at I_m and t_m before the diminution that results from the limitation by diffusion of copper ions. Therefore, the area under the curve in Fig. 2. between t_0 and t_m yields the optimum theoretical cutoff charge to apply during electrolysis to prepare the deposit of copper on different metals according to Faraday's law:

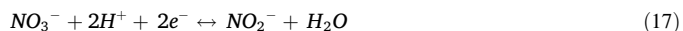
$$Q = \int_0^{t_m} I \cdot dt \quad (16)$$

The optimum theoretical cutoff charge density found was $|q| = 23.5 \text{ mC cm}^{-2}$.

In order to validate the cutoff charge, several charges were compared by detecting nitrate with SWV. The theoretically calculated charge was confirmed experimentally on the SWV presented in

Fig. 5. recorded with different cutoff charges in 1 mmol L^{-1} of nitrate in artificial seawater.

To obtain reproducible signals, SWV parameters were enhanced in terms of frequency, amplitude, and step potential. Theoretically, amplitude and step potential values are respectively $E_{sw} = 50/\eta$ and $E_{step} = 10/\eta$, where η is the number of exchanged electron(s) [31]. Considering the reduction of nitrate in nitrite with the following reaction:



Two electrons are exchanged, so E_{sw} should be around 25 mV and E_{step} around 5 mV. The signal frequency which enabled both sufficient sensitivity and minimal noise, was found to be between 25 Hz and 100 Hz.

The current density matching nitrate reduction around $E = -1$ vs (Ag/AgCl/KCl)/V on these voltammograms increases when the copper electrodeposition charge density increases from $|q| = 11.4 \text{ mC cm}^{-2}$ to 23.5 mC cm^{-2} as the effective surface area rises. However, increasing to 28.15 mC cm^{-2} and 32.8 mC cm^{-2} results in a drop in the nitrates reduction signal.

According to the Sabatier principle, when the activity of materials (cutoff charges in this case) are plotted versus the reactivity (peak current density), the best condition is determined on a peak-shaped

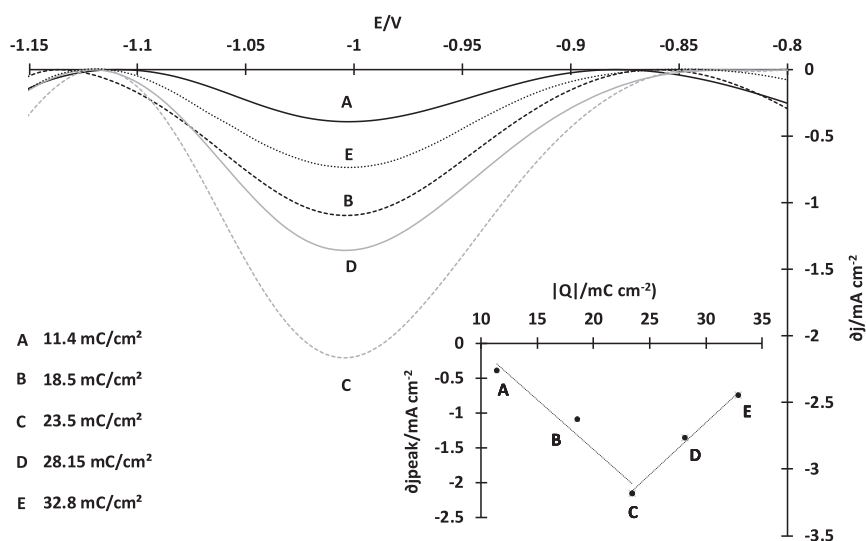


Fig. 5. Square wave voltammograms obtained in 1 mmol L^{-1} of nitrates in artificial seawater illustrating the influence of cutoff charge density used for copper deposition on gold electrode Working electrodes: Au, auxiliary electrode: Pt; reference electrode: Ag/AgCl/KCl. Inset: corresponding to the Volcano plot $\delta j_{\text{peak}}(\text{NO}_3^-) = f(|q|)$.

known as Volcano plot, corresponding to the intersection of the two straight lines ($\delta j_{\text{peak}} = |q|$) in the inset of Fig. 5 [32,33].

This behavior was observed previously by Legrand *et al.* [27]. This is due to the excessive growth of copper nuclei on the surface up to the point of coating the gold surface entirely, thus, the electrode behaves like a bare copper electrode.

The cutoff charge optimization was performed for other substrates. The optimum conditions to form modified electrodes are gathered in Table 1. These parameters were used to generate modified electrodes in order to proceed further in terms of direct detection of nitrate in artificial seawater, by SWV.

3.5. Nitrate detection using optimized bimetallic electrodes

SWV were recorded on Au/Cu, Pt/Cu and SS 316L/Cu electrodes in artificial seawater with different concentrations between 0.5 and 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$. The peak intensities were measured at nearby -1 V vs (Ag/AgCl/KCl) corresponding to the concentration of nitrate reduction and the calibration curves presented on Fig. 6.

Each electrode shows a linear behavior with nitrate concentration allowing to monitor nitrate in seawater while LOD, non-optimized yet, of 0.5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ is very promising.

The slopes are different on the three bimetallic electrodes; the modified electrode Pt/Cu shows an optimal slope, and thus better sensitivity than both Au/Cu and SS 316L/Cu. These results are in line with overpotential nucleation rate and cutoff charge density values as showed in Table 1 showing that the nucleation rate increases with the overpotential, while the cutoff charge density and the sensitivity (the slopes) are inversely proportional. The following observations can be done: imposing a low overpotential signifies a low applied energy, so the nuclei production rate is slower, consequently higher duration is needed to reach the optimum bimetallic surface, and so, the cutoff charge is higher. And based on the aforementioned correlation suggested by Massot *et al.* [34] between overpotential and roughness, at lower overpotentials, the roughness should be higher due to the presence of two metals, so the sensitivity of the electrode is increased.

4. Conclusions

Our work focused on determining the best operating conditions to optimize the sensitivity of bimetallic electrodes. The electrocrystallisation of copper on platinum, gold and stainless steel 316L was investigated using cyclic voltammetry and chronoamperometry and led to the following conclusions:

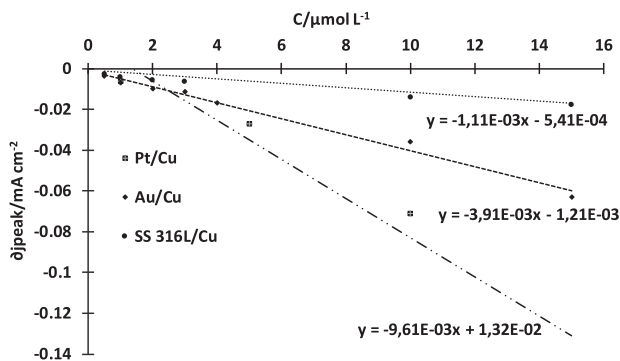


Fig. 6. Calibration curves $i_{\text{peak}} = ([\text{NO}_3^-])$ on Pt/Cu, Au/Cu and SS 16L/Cu for nitrates reduction peak around -1 V vs (Ag/AgCl/KCl) from SWV recorded between 0.5 and 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$ of nitrate in artificial seawater.

- On the three substrates copper nuclei are generated progressively during electrolysis and the nucleation mode was confirmed by SEM analysis: hemispherical shape and uneven sizes were observed;
- Copper germination rate is higher on platinum than on gold and stainless steel 316L, respectively;

Optimum theoretical cutoff charges density for copper electrodeposition on the three substrates were calculated from the area under the curves $j = f(t)$ between t_0 and t_m and were experimentally confirmed using a volcano plot where the best condition is determined on the peak of the diagram. Then these charges were applied to fabricate bimetallic electrodes with the highest active surface area.

In the second part, these modified electrodes were used to detect species demanding high sensitivity materials such as nitrate ions in seawater. the electroreduction of nitrate is not considerably different on various electrode structures. Except the higher sensitivity on Pt/Cu than on Au/Cu and on SS 316L/Cu. Finally, linear calibration curves were obtained for the nitrate concentration range tested (0.5 $\mu\text{mol L}^{-1}$ – 15 $\mu\text{mol L}^{-1}$).

Declaration of Competing Interest

The authors declare the following financial interests/personal relationships which may be considered as potential competing interests: Carole BARUS reports financial support was provided by Région Occitanie, FRANCE.

Acknowledgments

This work is supported by the Région Occitanie (ALDOCT-000781/19008749) and NKE Instrumentation based in Hennebont, France.

References

- [1] D. Grujicic, B. Pesic, Electrodeposition of copper: the nucleation mechanisms, *Electrochim. Acta*. 47 (2002) 2901–2912, [https://doi.org/10.1016/S0013-4686\(02\)00161-5](https://doi.org/10.1016/S0013-4686(02)00161-5).
- [2] P.M. Rigano, C. Mayer, T. Chierchie, Electrochemical nucleation and growth of copper on polycrystalline palladium, *J. electro. chem. interfacial electrochem.* 248 (1988) 219–228, [https://doi.org/10.1016/0022-0728\(88\)85163-5](https://doi.org/10.1016/0022-0728(88)85163-5).
- [3] C. Ji, G. Oskam, P.C. Searson, Electrochemical nucleation and growth of copper on Si (111), *Surf. Sci.* 492 (2001) 115–124, [https://doi.org/10.1016/S0039-6028\(01\)01410-8](https://doi.org/10.1016/S0039-6028(01)01410-8).
- [4] G. Gunawardena, G. Hills, I. Montenegro, Electrochemical nucleation: Part IV. Electrodeposition of copper onto vitreous carbon, *J. electro. chem. interfacial electrochem.* 184 (1985) 357–369, [https://doi.org/10.1016/0368-1874\(85\)85539-8](https://doi.org/10.1016/0368-1874(85)85539-8).
- [5] A.I. Danilov, E.B. Molodkina, Y.M. Polukarov, Initial stages of copper electrocrystallization from sulfate electrolytes: Cyclic voltammetry on a platinum ring-disk electrode, *Russ. J. Electrochem.* 36 (2000) 987–997, <https://doi.org/10.1007/BF02757512>.
- [6] G. Oskam, P.M. Vereecken, P.C. Searson, Electrochemical deposition of copper on n-Si/TiN, *J. Electrochem. Soc.* 146 (4) (1999) 1436–1441.
- [7] B. Scharifker, G. Hills, Theoretical and experimental studies of multiple nucleation, *Electrochim. Acta*. 28 (1983) 879–889, [https://doi.org/10.1016/0013-4686\(83\)85163-9](https://doi.org/10.1016/0013-4686(83)85163-9).
- [8] G. Gunawardena, G. Hills, I. Montenegro, B. Scharifker, Electrochemical nucleation: Part I. General considerations, *J. electro. chem. interfacial electrochem.* 138 (1982) 225–239, [https://doi.org/10.1016/0022-0728\(82\)85080-8](https://doi.org/10.1016/0022-0728(82)85080-8).
- [9] S. Levitus, M.E. Conkright, J.L. Reid, R.G. Najjar, A. Mantyla, Distribution of nitrate, phosphate and silicate in the world oceans, *Prog. Oceanogr.* 31 (1993) 245–273, [https://doi.org/10.1016/0079-6611\(93\)90003-V](https://doi.org/10.1016/0079-6611(93)90003-V).
- [10] M.D. Patey, M.J.A. Rijkenberg, P.J. Satham, M.C. Stinchcombe, E.P. Achterberg, M. Mowlen, Determination of nitrate and phosphate in seawater at nanomolar concentrations, *Trends Anal. Chem.* 27 (2008) 169–182, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.12.006>.
- [11] M.J. Moorcroft, J. Davis, R.G. Compton, Detection and determination of nitrate and nitrite: a review, *Talanta*. 54 (2001) 785–803, [https://doi.org/10.1016/S0039-9140\(01\)00323-X](https://doi.org/10.1016/S0039-9140(01)00323-X).
- [12] A.D. Beaton, C. Cardwell, R.S. Thomas, V.J. Sieben, F.E. Legrit, E.M. Waugh, P.J. Satham, M.C. Mowlen, H. Morgan, Lab-On-Chip measurement of nitrate and

- nitrite for *in situ* analysis of natural waters, *Environ. Sci.* 46 (2012) 9548–9556, <https://doi.org/10.1021/es300419u>.
- [13] A.D. Beaton, A.M. Schaap, R. Pascal, R. Hanz, U. Martincic, C.L. Cardwell, A. Morris, G. Clinton-Bailey, K. Saw, S.E. Hartman, M.C. Mowlem, Lab-on-Chip for *in situ* analysis of nutrients in the seep sea, *ACS Sens.* 7 (2022) 89–98, <https://doi.org/10.1021/acssensors.1c01685>.
- [14] G. MacIntyre, B. Plache, M.R. Lewis, J. Andrea, S. Feener, S.D. McLean, K.S. Johnson, L.J. Coletti, H.W. Jannasch, ISUS/SUNA nitrate measurements in networked ocean observing systems, *OCEANS* (2009) 1–7. <https://doi.org/10.23919/OCEANS.2009.5422251>.
- [15] N.G. Carpenter, D. Pletcher, Amperometric method for the determination of nitrate in water, *Anal. Chim. Acta.* 317 (1995) 287–293, [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(95\)00384-3](https://doi.org/10.1016/0003-2670(95)00384-3).
- [16] I. Ul-Haque, M. Tariq, Electrochemical reduction of nitrate: a review, *J. Che. Soc. Pak.* 32 (2010) 396–418.
- [17] G.E. Dima, A.C.A. De Vooy, M.T.M. Koper, Electrocatalytic reduction of nitrate at low concentration on coinage and transition-metal electrodes in acid solutions, *J. Electroanal. Chem.* 554 (2003) 15–23, [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(02\)01443-2](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(02)01443-2).
- [18] D. Pletcher, Z. Poorabedi, The reduction of nitrate at a copper cathode in aqueous acid, *Electrochim. Acta.* 24 (1979) 1253–1256, [https://doi.org/10.1016/0013-4686\(79\)87081-4](https://doi.org/10.1016/0013-4686(79)87081-4).
- [19] M. Shibata, K. Yoshida, N. Furuya, Electrochemical synthesis of urea on reduction of carbon dioxide with nitrate and nitrite ions using Cu-loaded gas-diffusion electrode, *J. Electroanal. Chem.* 387 (1995) 143–145, [https://doi.org/10.1016/0022-0728\(95\)03992-P](https://doi.org/10.1016/0022-0728(95)03992-P).
- [20] S. Cattarin, Electrochemical reduction of nitrogen oxyanions in 1 M sodium hydroxide solutions at silver, copper and CuInSe₂ electrodes, *J. Appl. Electrochem.* 22 (1992) 1077–1081, <https://doi.org/10.1007/BF01029588>.
- [21] J.D. Genders, D. Hartsough, D.T. Hobbs, Electrochemical reduction of nitrates and nitrites in alkaline nuclear waste solutions, *J. Appl. Electrochem.* 26 (1996) 1–9, <https://doi.org/10.1007/BF00248182>.
- [22] H.-L. Li, J.Q. Chambers, D.T. Hobbs, Electroreduction of nitrate ions in concentrated sodium hydroxide solutions at lead, zinc, nickel and phthalocyanine-modified electrodes, *J. Appl. Electrochem.* 18 (1988) 454–458, <https://doi.org/10.1007/BF01093762>.
- [23] K. Fajerwerg, V. Ynam, B. Chaudret, V. Garçon, D. Thouren, M. Comtat, An original nitrate sensor based on silver nanoparticles electrodeposited on a gold electrode, *Electrochem. Commun.* 12 (2010) 1439–1441, <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2010.08.003>.
- [24] J. Davis, M.J. Moorcroft, S.J. Wilkins, R.G. Compton, M.F. Cardosi, Electrochemical detection of nitrate and nitrite at a copper modified electrode, *Analyst.* 125 (2000) 737–742, <https://doi.org/10.1039/A909762G>.
- [25] U. Prüsse, K.-D. Vorlop, Supported bimetallic palladium catalysts for water-phase nitrate reduction, *J. Mol. Catal. A Chem.* 173 (2001) 313–328, [https://doi.org/10.1016/S1381-1169\(01\)00156-X](https://doi.org/10.1016/S1381-1169(01)00156-X).
- [26] J. Liang, Y. Zheng, Z. Liu, Nanowire-based Cu electrode as electrochemical sensor for detection of nitrate in water, *Sens. Actuators B: Chem.* 232 (2016) 336–344, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.03.145>.
- [27] D. Chen Legrand, C. Barus, V. Garçon, Square Wave Voltammetry Measurements of Low Concentrations of Nitrate Using Au/AgNPs Electrode in Chloride Solutions, *Electroanalysis.* 29 (2017) 2282–2287, <https://doi.org/10.1002/elan.201700447>.
- [28] N. Aouina, H. Cachet, C. Debiemme-chouvy, T. Thi Tuyet Mai, Insight into the electroreduction of nitrate ions at a copper electrode, in neutral solution, after determination of their diffusion coefficient by electrochemical impedance spectroscopy, *Electrochim. Acta.* 55 (2010) 7341–7345, <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2010.07.032>.
- [29] K. Rajeshwar, J.G. Ibanez, *Environmental electrochemistry : Fundamentals and applications in pollution abatement*, San Diego (1997).
- [30] A. J. Bard, L. R. Faulkner, J. L. Brisset. *Electrochimie: principes, méthodes et applications*. Masson, Paris. 1983.
- [31] A.J. Bard, L.R. Faulkner, *Fundamentals and applications, Electrochemical methods*, John Wiley & sons, 2001.
- [32] F. Calle-Vallejo, M. Huang, J.B. Henry, M.T.M. Koper, A.S. Bandarenka, Theoretical design and experimental implementation of Ag/Au electrodes for the electrochemical reduction of nitrate, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 15 (2013) 3196–3202, <https://doi.org/10.1039/C2CP44620K>.
- [33] A.B. Laursen, A.S. Varela, F. Dionigi, H. Fanchiu, C. Miller, O.L. Trinhammer, J. Rossmeisl, S. Dahl, Electrochemical Hydrogen Evolution: Sabatier's Principle and the Volcano Plot, *J. Chem. Educ.* 89 (2012) 1595–1599, <https://doi.org/10.1021/ed200818t>.
- [34] L. Massot, P. Chamelot, P. Palau, P. Taxil, Electrocrystallisation of tantalum in molten fluoride media, *Electrochim.* 50 (2005) 5408–5413, <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2005.03.021>.

Projets & Perspectives :
Elaboration de nouveaux matériaux
d'électrode

I – Augmentation de la sensibilité par modification de la surface active	96
I.1 – Traitement de surface du cuivre : optimisation	97
I.2 – Détection des nitrates dans les eaux naturelles	99
II – Dopage d'hétéroatomes par dépôt réactif en sels fondus	103
II.1 – Nitrures de Carbone (CN_x)	105
II.2.1 – Elaboration CN_x dans LiF/CaF_2	106
II.2.2 – Application : dégradation de pesticide	108
II.2– Nitrures métalliques : exemples des CuN_x	111
Références bibliographiques.....	114

Après 10 années de développement de capteurs pour l'océanographie, j'ai souhaité réorienter mes travaux de recherche sur l'élaboration de nouveaux matériaux d'électrode. Cette thématique, plus fondamentale, que j'ai initiée au LEGOS pour la détection électrochimique des nitrates (projet NESS, présenté au chapitre précédent), se poursuit au LGC et m'ouvre de nouvelles perspectives de recherche, d'applications et de collaborations au sein du département Procédés Electrochimiques du LGC que j'ai rejoint officiellement le 1^{er} juin 2021.

La suite du manuscrit présente quelques résultats préliminaires sur ce nouvel axe de recherche permettant d'alimenter les discussions et qui constituent le point de départ de mon projet de recherche pour les années à venir.

Une première partie concerne le développement d'une stratégie pour augmenter la sensibilité d'une électrode massive en cuivre grâce à un traitement de surface contrôlé, afin de détecter les nitrates dans les eaux naturelles. Ces travaux ont été réalisés en 2022, dans le cadre du projet NESS (Nitrate Electrochemical SenSor) lors de la thèse de Sherif Abed dont j'ai été co-directrice de thèse et du stage Master 2 GPBP-PCE2 (Génie des Procédés et Bio-Procédés - Procédés pour la Chimie, l'Environnement et l'Energie) d'Alexandra Brusq que j'ai également co-encadré.

La deuxième partie s'intéresse à de nouveaux matériaux émergents, aux larges perspectives d'applications, qui intègrent des dopages d'hétéroatomes au sein de mailles cristallines métalliques ou carbonées, réalisés par dépôts électrolytiques à hautes températures en milieu sels fondus. Sont présentés dans ce chapitre, les résultats obtenus (i) en 2019 lors du stage M2 d'Ahlem Regradj sur l'élaboration de nitrures de carbone et (ii) en 2022 sur l'élaboration de nitrures de cuivre pour la détection des nitrates (stage M2 d'Alexandra Brusq).

I – Augmentation de la sensibilité par modification de la surface active

Comme montré au chapitre précédent, le matériau cuivre possède des propriétés électrocatalytiques intrinsèques vis-à-vis de la détection des nitrates, où la nature du substrat n'avait finalement pas de grande influence sur la réponse des électrodes bimétalliques à base de nanoparticules de cuivre (voir Chapitre III). Ce résultat laisse penser qu'une augmentation de la surface active du cuivre serait suffisante pour améliorer la sensibilité de l'électrode.

I.1 – Traitement de surface du cuivre : optimisation

Un pré-traitement de surface du cuivre massif par dissolution et re-dépôt du cuivre dissous a été proposé en 2007 par Paixao *et al.*, et a effectivement montré une augmentation de la sensibilité de l'électrode par rapport à une électrode non traitée [1]. Cependant, le procédé utilisé de dissolution et re-dépôt du cuivre dissous était réalisé par polarisations de potentiel (respectivement 0,5 V pendant 10 s et -0,25 V pendant 15 s) sans contrôler les charges anodique et cathodique, donc les quantités de cuivre dissoute et redéposée.

Le traitement de surface d'un fil de cuivre de 1 mm de diamètre a été réalisé durant le stage M2 d'Alexandra Brusq en optimisant les quantités de cuivre dissoute et redéposée afin d'atteindre une surface active et donc une sensibilité les plus grandes possibles. La dissolution du cuivre a été réalisée par polarisation anodique à intensité imposée $I_{\text{imposée}} = 0,2 \text{ A}$ dans une solution désaérée d'acide sulfurique à $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ ne contenant pas d'ion cuivre. L'étape de re-dépôt a été effectuée à potentiel imposé $E_{\text{imposé}} = -0,2 \text{ V/Ag/AgCl/KCl (3M)}$ afin de réduire sélectivement les ions Cu^{2+} formés à l'étape précédente en Cu.

La stratégie mise en place a consisté à fixer dans un premier temps la charge anodique à $q_{\text{dissolution}} = 0,6 \text{ C cm}^{-2}$ puis à évaluer l'influence de la charge cathodique de re-dépôt ($q_{\text{re-dépôt}}$) sur les densités de courant différentiel du pic de réduction des nitrates sur les voltammogrammes à vague carrée obtenus dans de l'eau de mer artificielle contenant 1 mmol L^{-1} de nitrates (Figure IV-1).

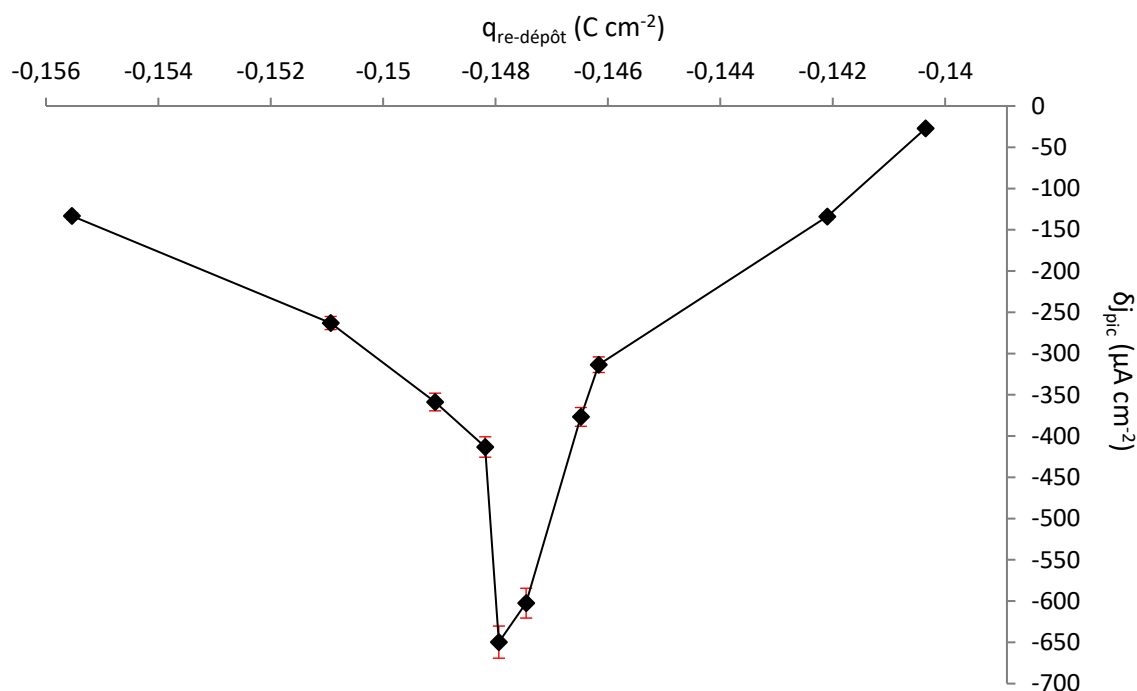


Figure IV - 1 : Variation des densités de courant différentiel du pic de réduction de 1 mmol L⁻¹ de nitrates dans de l'eau de mer artificielle en fonction de la charge de re-dépôt cathodique appliquée en pré-traitement du cuivre suite à une dissolution de $q_{dissolution} = 0,6 \text{ C cm}^{-2}$

Les résultats présentés sur la Figure IV-1 montrent qu'il existe une quantité optimale de cuivre à redéposer, après dissolution de 0,6 C cm⁻², déterminée à $q_{re-dépôt_optimale} = -0,148 \text{ C cm}^{-2}$ (soit un ratio $\frac{q_{dissolution}}{q_{re-dépôt}} = 4$) pour atteindre la meilleure sensibilité de l'électrode vis-à-vis de la détection des nitrates. Avec ce traitement de surface optimisé, le signal des nitrates a été multiplié d'un facteur ≈3 par rapport à une électrode de cuivre non traitée.

Dans un deuxième temps, l'expérience inverse a été réalisée, en fixant la charge cathodique à $q_{re-dépôt_optimale} = -0,148 \text{ C cm}^{-2}$ et en faisant varier la charge anodique de dissolution. Le même ratio optimal de 4 a été obtenu, avec une charge $q_{dissolution_optimale} = 0,6 \text{ C cm}^{-2}$, validant ainsi la stratégie proposée.

I.2 – Détection des nitrates dans les eaux naturelles

Les performances de cette électrode de cuivre modifié ont été évaluées vis-à-vis de la détection des nitrates dans les eaux naturelles (eaux de mer et eaux douces de consommation).

Les concentrations en nitrates dans l'eau de mer ont été déterminées à partir d'une droite d'étalonnage réalisée avec de l'eau de mer artificielle d'une salinité d'environ 35 pour des concentrations en nitrates comprises entre 2 et 52 $\mu\text{mol L}^{-1}$. La droite d'étalonnage obtenue est présentée sur la Figure IV-2.

Comme précédemment au Chapitre III, 3 échantillons d'eaux de mer naturelles stabilisés, certifiés et de concentrations en nitrates connues, ont été analysés afin d'évaluer la justesse des mesures obtenues (équation III-4) et valider ainsi la méthode de dosage. Les valeurs de concentrations et justesse obtenues sont rassemblées dans le Tableau IV-1.

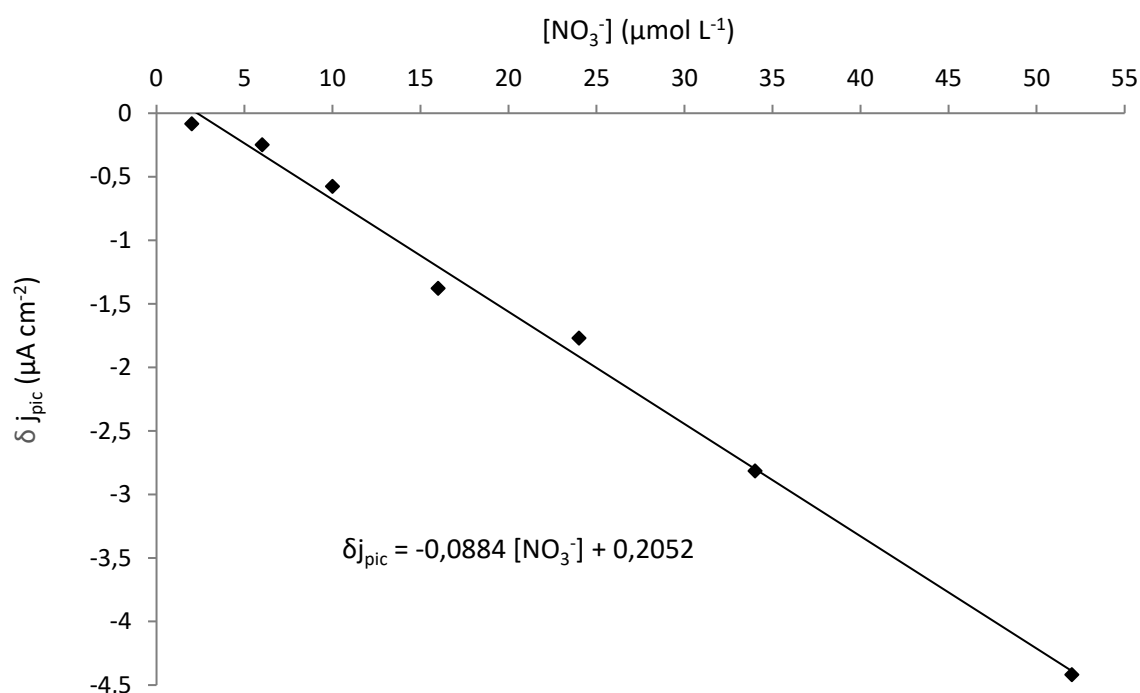


Figure IV - 2 : Droite d'étalonnage obtenue sur l'électrode Cu modifié dans de l'eau de mer artificielle contenant entre 2 et 52 $\mu\text{mol L}^{-1}$ de nitrates

Tableau IV - 1 : Concentrations en nitrates de référence et déterminées expérimentalement et justesse de mesure des lots de CRM analysés

Echantillon	$[\text{NO}_3^-]_{\text{réf}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	$[\text{NO}_3^-]_{\text{exp}}$ ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Justesse
Lot CM	34,0	23,4	69 %
Lot CN	44,7	43,2	97 %
Lot CP	25,4	30,7	79 %

Une relation linéaire a été observée sur toute la gamme de concentrations étudiée sans rupture de pente contrairement aux résultats obtenus avec les électrodes bimétalliques (Figure III-9). Le mécanisme de réduction des nitrates est donc différent sur le cuivre massif et sur les électrodes bimétalliques à base de cuivre, du fait notamment de l'adsorption des nitrates avant leur réduction dont le processus est différent selon le matériau et la composition de l'électrode.

La plus faible concentration quantifiée ($\text{LOQ}_{\text{Cu modifié}} = 2 \mu\text{mol L}^{-1}$), bien que plus élevée que celle obtenue avec les électrodes bimétalliques au chapitre précédent (pour rappel $\text{LOQ}_{\text{Cu/Au}} = 0,5 \mu\text{mol L}^{-1}$), reste prometteuse et perfectible. Néanmoins, un travail reste à faire pour améliorer la justesse des mesures dont les valeurs du Tableau IV-1 sont encore trop faibles ($< 80 \%$ pour 2/3 des CRM testées).

Contrairement à l'eau de mer, il n'existe pas de composition « standard » pour les eaux douces permettant de construire de façon classique une droite d'étalonnage à base d'eaux douces « artificielles » dopées avec des quantités connues de nitrates. La méthode des ajouts dosés a donc été préconisée.

Premièrement, l'analyse d'une eau minérale de concentration connue a été réalisée, permettant de valider la méthode. La Figure IV-3 présente la relation linéaire $\delta_{\text{pic}} = f([\text{NO}_3^-]_{\text{ajoutée}})$ obtenue dans l'eau minérale L'eau Neuve® de pH = 7, de conductivité $\sigma = 252 \mu\text{S cm}^{-1}$ et de concentration en nitrates connue égale à $[\text{NO}_3^-]_{\text{réf}} = 48 \mu\text{mol L}^{-1}$. A partir de l'ordonnée à l'origine et l'équation de la droite, la concentration expérimentale a été déterminée à $[\text{NO}_3^-]_{\text{exp}} = 46 \mu\text{mol L}^{-1}$ soit seulement 4% d'écart avec la valeur de référence.

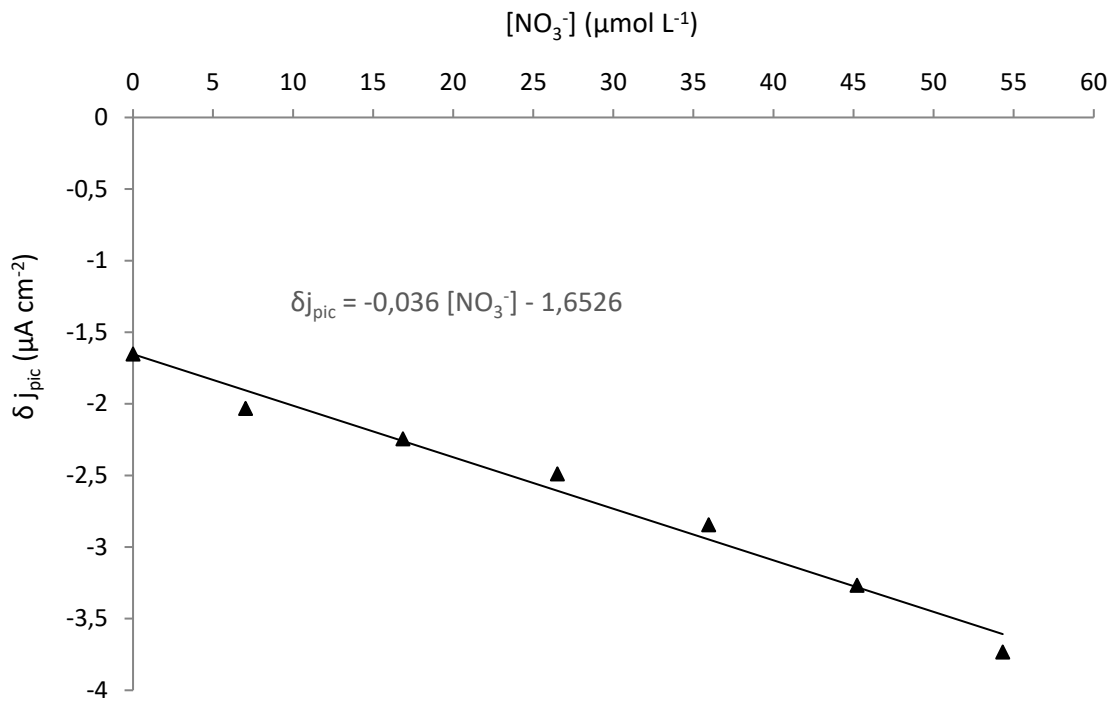


Figure IV - 3 : Relation linéaire donnant δj_{pic} en fonction de la concentration en nitrates ajoutée dans l'eau minérale L'eau Neuve®

La même stratégie a donc été appliquée pour analyser l'eau potable de la ville de Toulouse dont les résultats obtenus pour 2 analyses du même échantillon d'eau avec 2 électrodes de cuivre modifié différentes sont présentés sur la Figure IV-4.

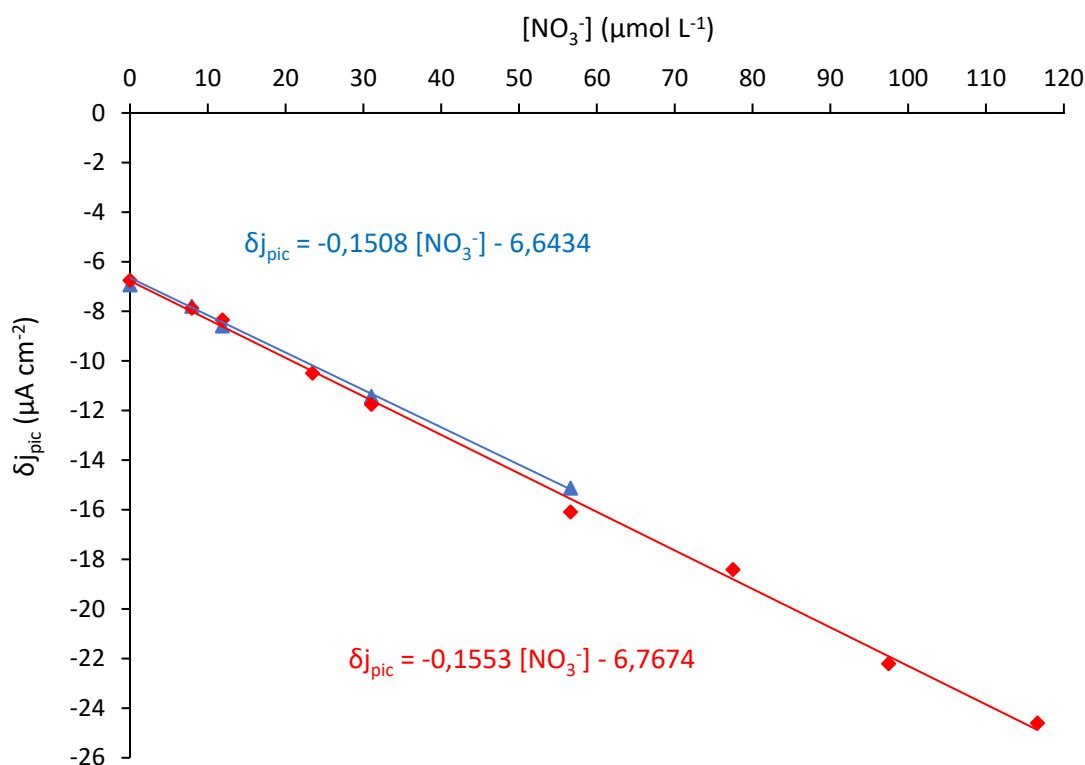


Figure IV - 4 : Relations linéaires donnant δj_{pic} en fonction de la concentration en nitrates ajoutée dans de l'eau de la ville de Toulouse

A partir des équations des 2 droites de la Figure IV-4, des concentrations en nitrates à respectivement 44,1 et 43,6 $\mu\text{mol L}^{-1}$ ont été obtenues dans l'échantillon d'eau analysée. Ces valeurs sont d'une part répétables (aux incertitudes de mesures près) et d'autre part cohérentes avec la valeur de 46 $\mu\text{mol L}^{-1}$ obtenue par une analyse conjointe en chromatographie ionique du même échantillon d'eau, réalisée au laboratoire.

Ces résultats préliminaires ont montré qu'outre les modifications de surface via les dépôts électrolytiques de nanoparticules métalliques classiquement employés, l'augmentation contrôlée de la rugosité de surface d'un métal permet également d'atteindre des niveaux de sensibilité compatibles avec des applications d'analyse de molécules présentes à l'état de traces dans les matrices naturelles, telles que les nitrates.

De plus, un matériau massif est plus robuste qu'une monocouche de nanoparticules permettant d'accroître sa stabilité dans le temps. En effet, une étude comparative de la stabilité dans de l'eau de mer artificielle du cuivre modifié et d'une électrode bimétallique Cu/Ag présentée au chapitre précédent, a montré une meilleure stabilité du cuivre massif, modifié avec une perte de 50 % du signal

en environ 4 heures seulement pour l'électrode bimétallique Cu/Ag contre environ 60 heures avec le cuivre modifié.

Enfin, un reconditionnement de surface du cuivre peut être également envisagé *in situ* avec ce procédé [1].

Une caractérisation optique de la surface du matériau créée devra être réalisée ainsi qu'une étude statistique, rigoureuse, afin d'améliorer les résultats notamment en termes de justesse de mesure, avant l'intégration de cette électrode au sein d'un capteur nitrates.

De manière plus générale, cette méthodologie de modification de surface active peut être étendue à d'autres métaux d'électrodes, non nobles, où un traitement de surface par oxydation est possible et également pour d'autres molécules cibles qui nécessitent des méthodes d'analyses très sensibles.

II – Dopage d'hétéroatomes par dépôt réactif en sels fondus

Après une modification de surface d'électrodes soit par un contrôle de la rugosité du métal, soit par le dépôt optimisé de nanoparticules métalliques, cette troisième voie s'intéresse à une modification de la structure même du matériau d'électrode pour apporter de nouvelles propriétés à celui-ci qui permettront de lever des verrous scientifiques dans différents domaines applicatifs (électrochimie analytique, traitement d'effluents, stockage d'énergie...) [2-7].

A l'instar des électrodes en Diamant Dopé au Bore (DDB), de nouveaux matériaux d'électrode émergent ces dernières années, à base d'une matrice carbonée ou métallique dopée avec des hétéroatomes (N, P, B, S,...). Ces dopages offrent aux matériaux d'électrode une excellente conductivité électronique, une bonne stabilité chimique, une large fenêtre électrochimique et des propriétés de réactivité et électrocatalytiques particulièrement intéressantes pour des applications en chimie analytique mais également pour la dégradation de molécules organiques [8-10].

Seck *et al.* ont en effet comparé les performances d'une électrode en nitrure de carbone (CN_x) synthétisée par pulvérisation plasma radiofréquence (sputtering) à une électrode commerciale DDB [8]. Ils ont également montré que la quantité d'azote au sein de la matrice carbonée a une influence

directe sur les performances de l'électrode et qu'il existe une quantité optimale pour atteindre les meilleures performances du matériau [8,11]. En effet, la réactivité de l'électrode serait liée à la quantité de C_{sp2} et donc le ratio C_{sp3}/C_{sp2} ; le transfert électronique se produisant préférentiellement à travers les sites d'hybridation sp^2 [12]. Dans le cas des électrodes DDB, les C_{sp2} sont localisés aux joints de grain où une surconcentration en Bore entraîne une modification de structure des carbones en C_{sp2} [13]. Dans le cas des CN_x , l'azote jouerait un rôle similaire au bore selon la liaison créée avec le carbone ($N=C_{sp2} / N-C_{sp3}$) [8,11-13].

La fenêtre électrochimique obtenue par Seck *et al.*, avec une électrode CN_x optimisée est plus large qu'avec une électrode DDB, notamment sur la partie anodique, comme illustré sur la Figure IV-5 (A). Ce résultat est particulièrement intéressant pour des applications de dégradation de molécules organiques par oxydation anodique qui nécessitent des anodes à forte surtension en dégagement de dioxygène [8,14].

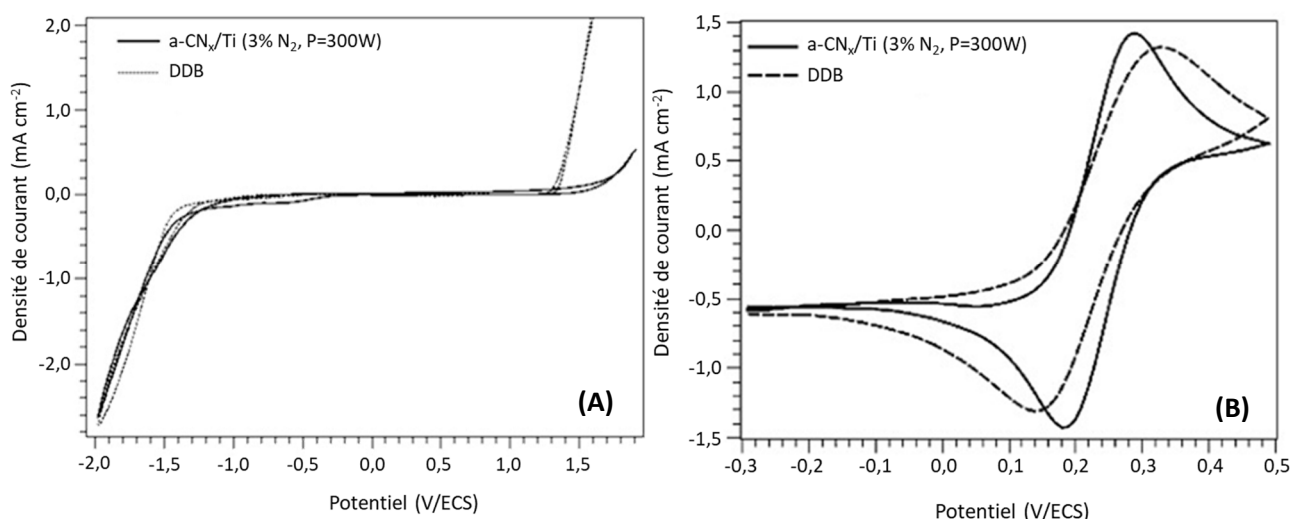


Figure IV - 5 : Voltammogrammes cycliques obtenus à 50 mV s^{-1} (pré-agitation 100 rpm) sur un film de nitrure de carbone ($a\text{-CN}_x$) et une électrode DDB avec (A) Comparaison des fenêtres électrochimiques dans KCl à $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ et (B) Comparaison de la cinétique électrochimique dans Ferri/Ferrocyanure à $10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ dans KCl à $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ (adapté de [8] – Copyright Wiley-VCH GmbH, Reproduced with permission)

La même électrode a été utilisée pour étudier la cinétique électrochimique du couple Ferri/Ferrocyanure ($[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$) où la Figure IV-5 (B) illustre une cinétique plus rapide avec CN_x qu'avec l'électrode DDB ; résultat très prometteur pour des applications d'électroanalyse [8].

L'équipe Procédés Electrochimiques en Sels Fondus (PESF) du LGC possède une expérience reconnue dans la réalisation de dépôts électrolytiques de carbures, nitrures et borures de métaux (Ta, Zr, Nb) à hautes températures en milieu sels fondus (chlorures, fluorures, carbonates) [15-17]. Grâce à ces études, le LGC a acquis un savoir-faire sur la maîtrise des paramètres opératoires (nature du précurseur, température, nature et rugosité du substrat, vitesse de dépôt) pour contrôler la composition et la morphologie des alliages de surface soit par dépôt réactif sur un substrat approprié avec diffusion intermétallique entre l'élément déposé et le substrat, soit par co-réduction électrochimique sur un substrat usuel et non-réactif.

Fort de cette expertise et en collaboration avec l'équipe PESF, l'objectif de ce nouvel axe de recherche est de proposer une voie originale d'élaboration de matériaux dopés (N, P, S, B,...) par dépôts/co-dépôts réactifs (anodique et/ou cathodique) en chlorures et fluorures fondus sur des électrodes graphite et métalliques. Ce procédé de dopage simple et rapide de mise en œuvre, peu coûteux, permettra de concurrencer l'élaboration de tels matériaux par dépôts chimiques en phase vapeur (Chemical Vapor Deposition (CVD)) classiquement employés dans la littérature. De plus, la diffusion intermétallique observée à hautes températures lors de dépôts électrochimiques permet l'obtention de couches d'alliages bien plus épaisses que les films minces obtenus par CVD [15].

Des premiers dopages d'azote ont été réalisés au LGC dans un bain de fluorures fondus à 850°C à partir de nitrures N^{3-} et ont montré la faisabilité de l'élaboration (i) de nitrures de carbone (CN_x) dont les performances ont été évaluées vis-à-vis de la dégradation d'un pesticide organique ainsi que (ii) des nitrures de cuivre (CuN_x) dont les propriétés ont été étudiées vis-à-vis de la détection des nitrates dans l'eau de mer artificielle. Les résultats obtenus sont présentés dans les paragraphes ci-après.

II.1 – Nitrures de Carbone (CN_x)

Ces travaux ont été réalisés en 2019 lors du stage Master 2 en Procédés pour la Chimie, l'Environnement et l'Energie d'Ahlem Regradj.

II.2.1 – Elaboration CN_x dans LiF/CaF_2

La Figure IV-6 présente le balayage aller d'un voltammogramme cyclique tracé à $v = 100 \text{ mV s}^{-1}$ sur une électrode de Graphite ($S = 0,45 \text{ cm}^2$) dans un mélange eutectique à 850°C de fluorures de lithium et de calcium (79,2 mol% de LiF et 20,3 mol% de CaF_2) contenant $0,1 \text{ mol kg}^{-1}$ de nitrure de lithium (Li_3N).

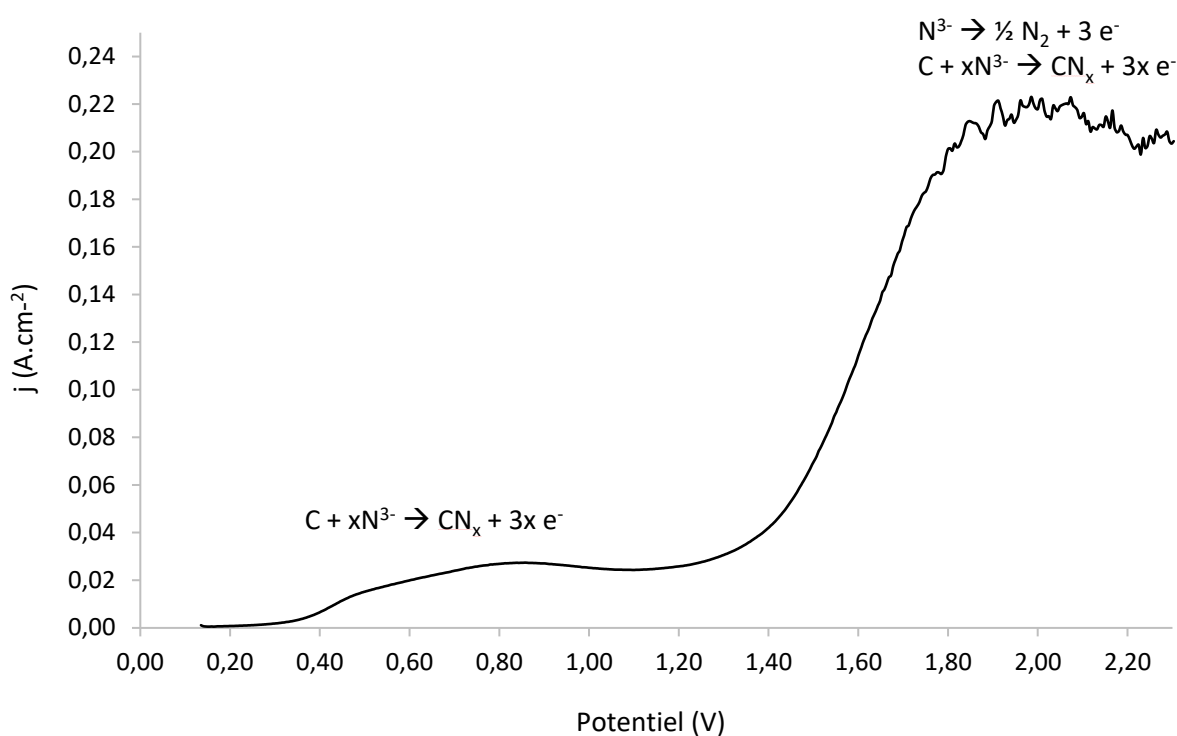


Figure IV - 6 : Voltammogramme cyclique (cycle aller) à 100 mV s^{-1} enregistré sur un fil de Graphite dans un mélange eutectique LiF/CaF_2 contenant $0,1 \text{ mol kg}^{-1}$ de Li_3N ($T = 850^\circ\text{C}$) (contre-électrode et pseudo-référence en carbone vitreux)

Deux pics sont visibles vers 0,50 et 0,85 V correspondant à l'insertion d'azote au sein du graphite (C) par oxydation des ions nitrure (N^{3-}) selon l'équation IV-1 :



A partir de 1,70 V, la formation de CN_x est accompagnée de dégazement de diazote (N_2) (équation IV-2).



Une étude de la vitesse de balayage réalisée sur les différents pics a montré que la réaction d'oxydation des nitrures est contrôlée par la diffusion en solution.

Après une électrolyse à $I = 240$ mA (correspondant à la 2^{ème} oxydation à $E_{pic} = 0,9$ V) pendant 30 minutes, des observations au microscope électronique à balayage (MEB) avec analyses EDX (Energy Dispersive X-ray spectroscopy) ont confirmé la présence d'azote au sein de la matrice carbonée à hauteur d'environ 20 % atomique (Figure IV-7).



Figure IV - 7 : Micrographie MEB de la surface d'une électrode de Graphite après 1800 s d'électrolyse à $I = 240$ mA dans $LiF/CaF_2/Li_3N$ ($0,1 \text{ mol kg}^{-1}$) à 850°C

La potentialité d'utiliser cette électrode CN_x (Figure IV-7) pour dégrader des molécules organiques a été étudiée et les résultats ont été comparés avec ceux obtenus avec une électrode graphite non modifiée ainsi qu'une électrode Diamant dopé au bore dans le paragraphe suivant.

II.2.2 – Application : dégradation de pesticide

Les eaux continentales et côtières souffrent durablement des conséquences des activités humaines, agricoles, industrielles et domestiques. D'après le Ministère de la transition écologique et de la cohésion des territoires, la France est le deuxième utilisateur de produits phytosanitaires en Europe, huitième rapporté à l'hectare. La surveillance de la qualité des eaux de surface et des eaux souterraines met en évidence une présence de pesticides dans la plupart des sous-bassins avec des concentrations très élevées dans les zones de grandes cultures, d'arboricultures et de viticultures [18]. Pour protéger la qualité des masses d'eau, la directive-cadre sur l'eau prévoit des normes de qualités environnementales concernant plus de 66 pesticides et la directive européenne 98/83/CE impose un suivi permanent de la qualité des Eaux Destinées à la Consommation Humaine, fixant une concentration maximale en pesticides pour la production d'eau potable à $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ par substance et $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ pour le total des pesticides [19]. Pour les eaux de surface, près de 20 % des stations de surveillance dépassent les concentration maximales admissibles pour au moins un pesticide sur la période 2017-2019 [18]. Une dépollution des effluents est donc nécessaire. Les traitements physiques d'effluents par transfert de masse (décantation [20], précipitation [21], adsorption des polluants sur charbon actif [22]), d'incinération ou par voie biologique, usuellement proposés, requièrent des quantités considérables d'agents oxydants (coûteux), sont source de pollutions secondaires (formation de boue) et pas toujours efficaces. Certains pesticides résistent notamment aux traitements biologiques massivement employés.

L'enjeu majeur pour la dépollution d'échantillons est la dégradation complète des molécules organiques (produits de dégradation inertes). Depuis plusieurs années, le LGC étudie les Procédés électrochimiques d'Oxydation Avancée (POA) comme alternative pour dégrader les polluants organiques les plus résistants [23-25]. Pour cela, une électrode à forte surtension en dégagement de dioxygène est nécessaire. Ces matériaux d'anode permettent la formation de radicaux hydroxyle ($\cdot\text{OH}$) hautement réactifs, capables de décomposer la plupart des molécules organiques en molécules biologiquement dégradables ou en composés minéraux tels que le CO_2 et H_2O . L'électrode classiquement employée est le Diamant Dopé au Bore (DDB). Si les performances du DDB ont été largement démontrées, la géométrie de ces électrodes est peu modulable (surface lisse) [26,27]. Une électrode en nitrure de carbone est donc proposée.

L'électrode CN_x élaborée au laboratoire par dépôt réactif dans LiF/CaF_2 (Figure IV-7) a été testée pour dégrader un pesticide organophosphoré : le diméthoate (DIM), en mode intensostatique à $I = 1,56 \text{ mA}$ en comparant les performances obtenues avec celles d'une électrode commerciale de DDB et une électrode en graphite non dopée. La Figure IV-7 montre la diminution (en %) au cours du temps de la concentration en diméthoate dans la solution traitée. Une échelle de temps normalisé (t_N en min cm^{-1}) a été utilisée pour s'affranchir des différences de surface des électrodes utilisées, avec t_N défini selon l'équation IV-3.

$$t_N (\text{min cm}^{-1}) = t \times \frac{S_{\text{électrode}}}{V_{\text{solution traitée}}} \quad (\text{IV-3})$$

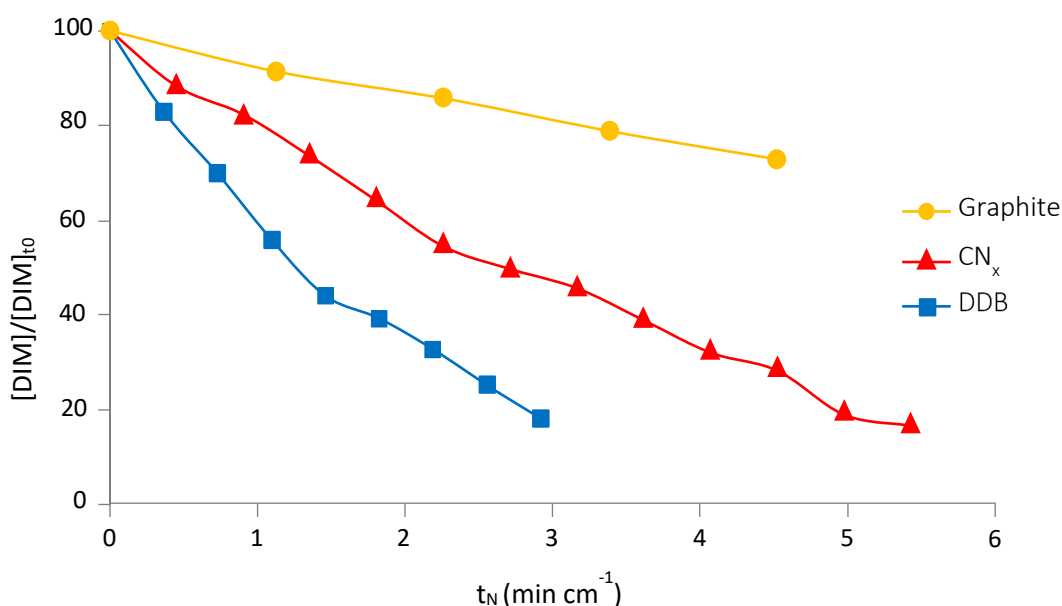


Figure IV - 8 : Diminution de la concentration en diméthoate ($[DIM]/[DIM]_0$) en fonction du temps normalisé (t_N) d'électrolyse à $I = 1,56 \text{ mA}$ dans H_2SO_4 $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ contenant $[DIM] = 22,54 \text{ mg L}^{-1}$

82% de diméthoate ont été dégradés après $2,9 \text{ min cm}^{-1}$ d'électrolyse avec l'électrode de diamant dopé au bore, 84% de diméthoate ont été consommés après $5,4 \text{ min cm}^{-1}$ d'électrolyse avec l'électrode de nitrure de carbone, et enfin seulement 28% après $4,5 \text{ min cm}^{-1}$ d'électrolyse avec le graphite non dopé. Si la cinétique de dégradation observée sur la Figure IV-8 est plus lente avec CN_x qu'avec l'électrode DDB, ce résultat est néanmoins très prometteur. Une optimisation de la composition de l'électrode

CN_x et particulièrement du ratio C_{sp3}/C_{sp2}, permettra d'améliorer ce résultat et de concurrencer les performances de dégradation de l'électrode DDB [8].

Pour poursuivre ce travail, j'ai déposé un sujet de thèse au LGC (école doctorale MEGeP) sur la réalisation de dopages (N,P) en milieu sels fondus pour la dégradation ainsi que la détection d'un pesticide organophosphoré : le glyphosate, herbicide à large spectre, non sélectif, largement utilisé dans l'agriculture et potentiellement cancérigène pour l'espèce humaine.

Le premier et principal challenge de la thèse est la mise au point et l'optimisation du procédé d'élaboration des matériaux d'électrode (graphite dopé et substrats métalliques dopés). Pour ce faire, le mécanisme réactionnel du/des dépôt/s sera étudié ainsi que l'influence de la nature et de la concentration en hétéroatomes (N,P,...) vis-à-vis des propriétés électrocatalytiques obtenues. Les matériaux seront caractérisés du point de vue de leurs propriétés électrochimiques, physiques et de leur durabilité.

Dans un deuxième temps, il conviendra d'étudier le mécanisme de dégradation du glyphosate. Les performances des matériaux et leur capacité à générer des radicaux hydroxyles, seront comparées à celles obtenues avec une électrode DDB. Des échantillons seront testés dans un réacteur de type batch avec un suivi analytique de la dégradation du glyphosate et de ses intermédiaires réactionnels ainsi que les paramètres globaux (demande chimique en oxygène, carbone organique total).

Un dernier volet, plus exploratoire, concerne la détection du glyphosate où l'enjeu majeur est la sensibilité du matériau d'électrode. Le glyphosate, étant un agent complexant puissant, est souvent détecté de façon indirecte via l'électro-oxydation du cuivre [28,29]. Plus récemment, une détection directe a été observée sur une électrode d'or sans pré-traitement de l'échantillon mais la limite de détection est encore trop élevée comparé aux objectifs fixés [30]. Afin d'atteindre des seuils de sensibilité répondant aux exigences environnementales, le dopage (ou co-dopage) N, P de substrats métalliques tels que le cuivre (CuN_x, CuP_y, CuN_xP_y) et surtout l'or pour former des phosphures d'or (AuP_y) sera étudiée.

Ce projet de recherche centré sur la conception et l'optimisation de matériaux d'électrode inédits, jamais réalisés auparavant, permettra de lever des verrous scientifiques et étendra le spectre des perspectives d'applications associées aux résultats obtenus. Ce projet est également transversal aux trois équipes du département Procédés Electrochimiques me permettant d'assoir ma récente intégration au LGC.

II.2 – Nitrures métalliques : exemple des CuN_x

Plus récemment, et en complément des travaux précédents, j'ai réalisé des dopages de nitrures au sein de matrices métalliques : Cu, Fe, Mo, Nb, Ni, Ta, W, et Zr dans un bain eutectique LiF/CaF_2 à 840°C . Un exemple des voltammogrammes cycliques obtenus est présenté sur la Figure IV-9. Pour plus de clarté, seuls les balayages aller des voltammogrammes sont tracés. Sur l'ensemble des métaux testés, un (ou plusieurs) pic(s) d'oxydation correspondant à l'oxydation des nitrures N^{3-} en $\text{N}^{(0)}$ au sein du métal (M) est observé avant l'oxydation du substrat d'électrode (exponentielle) (équation IV-4) :

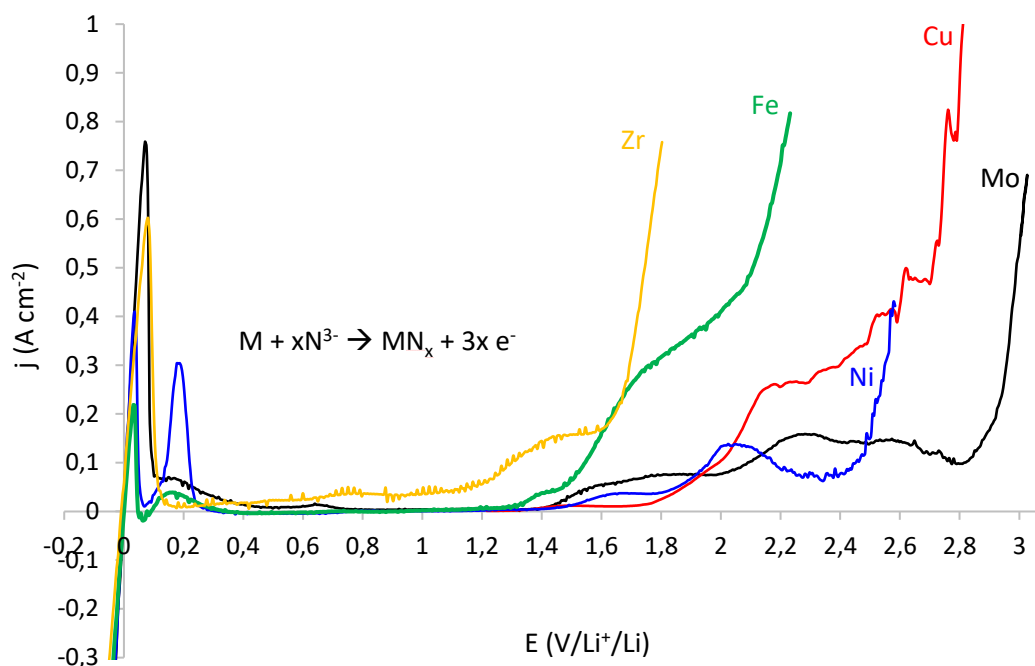


Figure IV - 9 : Voltammogrammes cycliques (cycles aller) enregistrés à 100 mV s^{-1} , à 840°C dans un mélange eutectique LiF/CaF_2 contenant $0,2\text{ mol kg}^{-1}$ de Li_3N sur Mo (noir), Cu (rouge), Ni (bleu), Fe (vert) et Zr (jaune)

J'ai réalisé des électrodes en MN_x par oxydation de N^{3-} sur chacun des métaux testés par électrolyses à potentiel imposé, au potentiel correspondant à la formation des nitrures, déterminé sur les voltammogrammes de la Figure IV-9, pour des charges comprises entre 30 C cm^{-2} et 265 C cm^{-2} . Dans

l'exemple du nitrure de cuivre CuN_x , le potentiel appliqué était de $E_{\text{imposé}} = 2,1 \text{ V/Li}$ pendant 1800 s correspondant à une charge de dépôt de $81,5 \text{ C cm}^{-2}$.

Afin de mettre en évidence l'influence du dopage à l'azote sur les propriétés électrocatalytiques du matériau obtenu, une étude comparative des performances du nitrure de cuivre CuN_x , du cuivre brut et du cuivre modifié selon le procédé de traitement de surface présenté en début de chapitre, vis-à-vis de la détection des nitrates, a été réalisée par Alexandra Brusq dans le cadre de son stage M2 que j'ai co-encadré en 2022. Les voltammogrammes à vague carrée obtenus dans de l'eau de mer artificielle contenant 1 mmol L^{-1} de nitrate sont présentés sur la Figure IV-10.

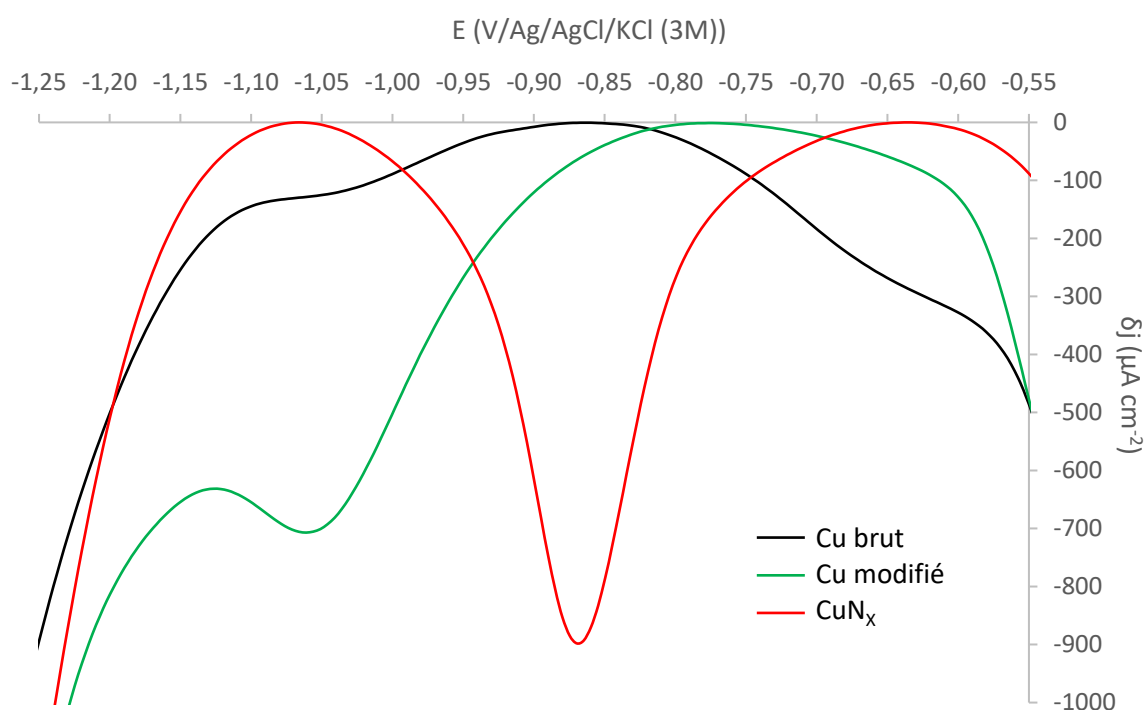


Figure IV - 10 : Voltammogrammes à vague carrée ($f = 9 \text{ Hz}$) enregistrés dans l'eau de mer artificielle contenant 1 mmol L^{-1} de NO_3^- sur des fils de Cu brut (noir), de Cu modifié (vert) et de CuN_x (rouge)

Une surtension plus faible de 180 mV de la réduction des nitrates est observée sur la Figure IV-10 pour l'électrode en CuN_x comparé à Cu brut et Cu modifié. Les nitrates se réduisent à $-0,87 \text{ V/réf}$ sur CuN_x contre $-1,05 \text{ V/réf}$ sur le cuivre non-dopé. La réduction des nitrates demande donc moins d'énergie sur CuN_x et est bien dissociée de la réduction du solvant ($E_{\text{solvant}} = -1,20 \text{ V/réf}$) offrant donc un meilleur rendement faradique. Ces résultats préliminaires sont extrêmement prometteurs, notamment pour

des applications à fort impact environnemental tel que la dégradation de nitrates au sein d'effluents agricoles et industriels [31].

La densité de courant différentiel de pic est également 3,6 plus élevée en valeur absolue avec CuN_x que celle observée avec l'électrode de cuivre modifié, ouvrant des perspectives intéressantes en électrochimie analytique.

L'ensemble de ces observations illustre la grande potentialité du matériau suite à son dopage N. Il conviendra par la suite d'étudier notamment l'influence de la charge de dépôt (quantité dopant) sur les propriétés du matériau ainsi que la nature du dopant. Des co-dopages N et P seront également testés. En effet, il a été démontré que le co-dopage du graphite avec plusieurs hétéroatomes, peut générer un effet synergique, améliorant l'activité catalytique vis-à-vis de la réduction de l'oxygène [32].

Afin de poursuivre ces travaux sur la détection des nitrates, j'ai déposé un projet à l'Appel d'Offres Tremplin 2023 de l'Université de Toulouse III, proposant des nitrures de cuivre ou phosphures de cuivre élaborés par dépôts anodique ou cathodique en milieux sels fondus. Ce pré-projet DEMO (Dopage électrochimique pour l'Elaboration de Matériaux Originaux) permettra d'affiner la caractérisation de ces nouvelles électrodes et de modérer le risque de leur utilisation dans un capteur électrochimique pour la détection des nitrates en vue d'un dépôt de projet européen avec une partie du consortium NAUTILUS avec lequel je suis impliquée dans le développement du capteur Silicate (chapitre II) et en collaboration avec nke Instrumentation qui souhaite continuer notre collaboration sur ce projet.

Sur le plus long terme, l'ensemble du savoir-faire acquis pourra être utilisé pour élaborer d'autres métaux dopés et pour détecter et/ou dégrader d'autres molécules cibles. Le traitement de surface contrôlé des métaux (non-nobles) pour augmenter leur rugosité, pourra être combiné avec les dépôts réactifs (avant ou après le procédé de dopage). Également, pour augmenter la réactivité du matériau, il est possible d'utiliser des substrats de grandes surfaces actives pour la réalisation des dopages, tels que les composites Carbone/Carbone, le carbone pyrolytique ou le carbone électrolytique (structures 3D) [33].

Références bibliographiques

- [1] T.R.L.C. Paixao, J.L. Cardoso, M. Bertotti ; Determination of nitrate in mineral water and sausage samples by using a renewable *in situ* copper modified electrode ; *Talanta* 71 (2007) 186-191.
- [2] R.A. Medeiros, R. Matos, A. Benchikh, B. Saidani, C. Debiemme-Chouvy, C. Deslouis, R.C. Rocha-Filho, O. Fatibello-Filho ; Amorphous carbon nitride as an alternative electrode material in electroanalysis: Simultaneous determination of dopamine and ascorbic acid ; *Analytica Chimica Acta* 797 (2013) 30-39.
- [3] J. Feng, Q. Tao, H. Lan, Y. Xia, Q. Dai ; Electrochemical oxidation of sulfamethoxazole by nitrogen-doped carbon nanosheets composite PbO₂ electrode: Kinetics and mechanism ; *Chemosphere* 286 (2022) 131610.
- [4] R. Kumar, S. Sahoo, E. Joanni, R.K. Singh, K. Maegawa, W.K. Tan, G. Kawamura, K.K. Kar, A. Matsuda ; Heteroatom doped graphene engineering for energy storage and conversion ; *Materials Today* 39 (2020) 47-65.
- [5] Y. Li, M. Chen, B. Liu, Y. Zhang, X. Liang, X. Xia ; Heteroatom Doping: An Effective Way to Boost Sodium Ion Storage ; *Advanced Energy Materials* 10 (2020) 2000927.
- [6] B. Li, S. Zhang, C. Cui, W. Qian, Y. Jin ; Comprehensive Review on Nitrogen-Doped Graphene: Structure Characterization, Growth Strategy, and Capacitive Energy Storage ; *Energy Fuels* xxxx (2022) xxx-xxx.
- [7] R. Wang, M. Li, K. Sun, Y. Zhang, J. Li, W. Bao ; Element-Doped Mxenes: Mechanism, Synthesis and Applications ; *Small* 18 (2022) 2201740.
- [8] S.M. Seck, S. Charvet, M. Fall, E. Baudrin, M. Lejeune, M. Benlahsen ; Detection of Cadmium and Copper Cations Using Amorphous Nitrogenated Carbon Thin Film Electrodes ; *Electroanalysis* 24 (2012) 1839-1846.
- [9] R. Li, Z. Wei, X. Gou ; Nitrogen and Phosphorus Dual-Doped Graphene/Carbon Nanosheets as Bifunctional Electrocatalysts for Oxygen Reduction and Evolution ; *ACS Catalysis* 5 (2015) 4133-4142.
- [10] X. Zhao, K. Zhao, X. Quan, S. Chen, H. Yu, Z. Zhang, J. Niu, S. Zhang ; Efficient electrochemical nitrate removal on Cu and nitrogen doped carbon ; *Chemical Engineering Journal* 415 (2021) 128958.
- [11] A. Lagrini, C. Deslouis, H. Cachet, M. Benlahsen, S. Charvet ; Elaboration and electrochemical characterization of nitrogenated amorphous carbon films ; *Electrochemistry Communications* 6 (2004) 245-248.
- [12] M. Benlahsen, H. Cachet, C. Debiemme-Chouvy, C. Deslouis, A. Lagrini, V. Vivier ; Improvement and characterization of the electrochemical reactivity of amorphous carbon nitride electrodes ; *Electrochemistry Communications* 7 (2005) 496-499.
- [13] P. Tamiasso-Martinhon, H. Cachet, C. Debiemme-Chouvy, C. Deslouis ; Thin films of amorphous nitrogenated carbon a-CN_x: Electron transfer and surface reactivity ; *Electrochimica Acta* (2008) 5752-5759.

- [14] F.C. Moreira, R.A.R. Boaventura, E. Brillas, V.J.P. Vilar ; Electrochemical advanced oxidation processes : A review on their application to synthetic and real wastewaters ; *Applied Catalysis B : Environmental* 202 (2017) 217-261.
- [15] P. Taxil, P. Chamelot, L. Massot, C. Hamel ; Electrodeposition of alloys or compounds in molten salts and applications ; *Journal of Mining and Metallurgy* 39 (2003) 177-200.
- [16] L. Massot, P. Chamelot, P. Taxil ; Preparation of tantalum carbide films by reaction of electrolytic carbon coating with the tantalum substrate ; *Journal of Alloys and Compounds* 424 (2006) 199-203.
- [17] L. Massot, P. Chamelot, P. Winterton, P. Taxil ; Preparation of tantalum carbide layers on carbon using the metallizing process ; *Journal Alloys and Compounds* 471 (2009) 561-566.
- [18] La pollution des eaux superficielles et souterraines en France extrait du Bilan environnemental de la France – Edition 2021
- [19] <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1998L0083:20090807:FR:PDF>
- [20] C. Allegre, M. Maisseu, F. Charbit, P. Moulin ; Coagulation-flocculation-decantation of dye house effluents: concentrated effluents ; *Journal of Hazardous Materials* 10 (2004) 57-64.
- [21] G. Sado, M.-C. Sado ; Les plans d'expériences : de l'expérimentation à l'assurance qualité. Afnor Technique, 1991.
- [22] M.P. Ormad, N. Miguel, A. Claver, J.-M. Matesanz, J.L. Ovelleiro ; Pesticides removal in the process of drinking water production ; *Chemosphere* 71 (2008) 97-106.
- [23] E. Weiss, K. Groenen-Serrano, A. Savall ; A comparison of electrochemical degradation of phenol on boron doped diamond and lead dioxide anodes ; *Journal of Applied Electrochemistry* 38 (2008) 329-337.
- [24] X. Yu, M. Zhou, Y. Hu, K. Groenen Serrano, F. Yu ; Recent updates on electrochemical degradation of bio-refractory organic pollutants using BDD anode: a mini review ; *Environmental Science and Pollution Research* 21 (2014) 8417-8431.
- [25] Y. Aimer, O. Benali, K. Groenen Serrano ; Study of the degradation of an organophosphorus pesticide using electrogenerated hydroxyl radicals or heat-activated persulfate ; *Separation and Purification Technology* 208 (2019) 27-33.
- [26] M. Panizza, G. Cerisola ; Application of diamond electrodes to electrochemical processes ; *Electrochimica Acta* 51 (2005) 191-199.
- [27] J. Lv, Y. Feng, J. Liu, Y. Qu, F. Cui ; Comparison of electrocatalytic characterization of boron-doped diamond and SnO₂ electrodes ; *Applied Surface Science* 283 (2013) 900-905.
- [28] S. Pintado, M.R. Montoya, R. Rodríguez-Amaro, M. Mayén, J.M. Rodríguez Mellado ; *International Journal of Electrochemical Science* 7 (2012) 2523-2530.
- [29] S. Poorahong, C. Thammakhet, P. Thavarungkul, P. Kanatharana ; One-step preparation of porous copper nanowires electrode for highly sensitive and stable amperometric detection of glyphosate ; *Chemical Papers* 69 (2015) 385-394.
- [30] J.S. Noori, M. Dimaki, J. Mortensen, W.E. Svendsen ; Detection of Glyphosate in Drinking Water: A Fast and Direct Detection Method without Sample Pretreatment ; *Sensors* 18 (2018) 2961.

- [31] Y. Zeng, C. Priest, G. Wang, G. Wu ; Restoring the Nitrogen Cycle by Electrochemical Reduction of Nitrate : Process and Prospects ; *Small Methods* 4 (2020) 2000672.
- [32] J. Zhang, L. Dai ; Heteroatom-Doped Graphitic Carbon Catalysts for Efficient Electrocatalysis of Oxygen Reduction Reaction ; *ACS Catalysis* 5 (2015) 7244-7253.
- [33] L. Massot, P. Chamelot, P. Winterton, P. Taxil ; Preparation of tantalum carbide layers on carbon using the metalliding process ; *Journal of Alloys and Compounds* 471 (2009) 561-566.

Abréviations

Abréviations

Abréviation	Désignation
AA	Acide Ascorbique
AA-2P	Ascorbyl Glucoside
ANESIS	Autonomous Nutrients Electrochemical Sensors <i>In Situ</i>
ANR	Agence Nationale de la Recherche
BHA	Butylhydroxyanisole
BHT	Butylhydroxytoluène
CEP	Equipe Capteurs Electrochimiques et Procédés
CNRS	Centre National de la Recherche Scientifique
CRM	Certified Reference Material
CVD	Chemical Vapor Deposition (dépôt chimique en phase vapeur)
DDB	Diamant Dopé au Bore
DEMO	Dopage électrochimique pour l'Elaboration de Matériaux Originaux
DETA	DiEthyleneTriAmine
DGEBA	DiGlycidylEther du Bisphenol A
DPV	Differential Pulse Voltammetry (voltammétrie différentielle à impulsions)
EDX	Energy Dispersive X-ray spectroscopy
EGCG	Epigallocatechine Gallate
GIS	Groupe d'Instrumentation Scientifique
GPBP	Génie des Procédés et BioProcédés
ICE	Chantier Instrumentation et Capteurs Environnementaux
ICE-ARC	Ice, Climate, Economics – Arctic Research on Change
IPDA	IsoPhorone DiAmine
LAAS	Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes
LEGOS	Laboratoire d'Etudes en Géophysique et Océanographie Spatiales
LGC	Laboratoire de Génie Chimique
LOD	Plus petite concentration détectée, non alignée sur la droite d'étalonnage
LOQ	Plus petite concentration quantifiée, sur la droite d'étalonnage
MAISOE	Microlaboratoires d'Analyses <i>In Situ</i> pour des Observatoires Environnementaux
MEB	Microscope Electronique à Balayage
MEGeP	Ecole doctorale Mécanique, Energétique, Génie civil et Procédés
MIACTIS	Microsystèmes Intégrés pour l'Analyse de Composés en Traces <i>In Situ</i>
NAC	N-Acétyl-L-Cystéine
NAUTILOS	New Approach to Underwater Technologies for Innovative, Low-cost Ocean obServation
NESS	Nitrate Electrochemical SenSor
OMP	Observatoire Midi-Pyrénées
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PCE2	Procédés pour la Chimie, l'Environnement et l'Energie
PEEK	Poly Ether Ether Ketone
PESF	Equipe Procédés Electrochimiques et Sels Fondus
PMMA	PolyMéthacrylate de Méthyle

POA	Procédés d'Oxydation Avancés
psu	Practical Salinity Unit
RTRA	Réseau Thématique de Recherche Avancée
STAE	Sciences et Technologies pour l'Aéronautique et l'Espace
SUNA	Submersible Ultraviolet Nitrate Analyzer
SWV	Voltammétrie à Vague Carrée
TBAP	Tétrabutylammonium
TRL	Technology Readiness Level
UPS	Université Paul Sabatier, Toulouse III
Vit. E	Vitamine E (α -tocophérol)

Curriculum Vitae

CURRICULUM VITAE

Candidate :

ECOLE DOCTORALE DE RATTACHEMENT : MEGeP

Nom : **BARUS**

Prénom : **Carole**

Nom d'usage :

Née le : 29 Juin 1982

Fonctions : Ingénieur de Recherche (1^{ère} Classe) CNRS

Doctorat obtenu le : 4 Décembre 2008 à Toulouse

I. PARCOURS UNIVERSITAIRE

2005-2009 : Doctorat en Génie des Procédés et Environnement, Université Paul Sabatier, Toulouse III

Thèse effectuée au Laboratoire de Génie Chimique intitulée « Etude électrochimique de molécules antioxydantes et de leur association en milieux homogène et biphasique – Application aux produits dermocosmétiques » et soutenue le 4 Décembre 2008.

2004-2005 : Master 2 Recherche Physicochimie Analytique, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI - Mention Bien

Stage Recherche de 6 mois effectué au Laboratoire Environnement et Chimie Analytique, Paris sur le « Développement de polymères à empreinte moléculaire pour l'extraction sélective de molécules à l'état de traces dans les milieux biologiques »

2003-2004 : Maîtrise de Chimie, Université Paul Sabatier, Toulouse

2002-2003 : Licence de Chimie, Université Paul Sabatier, Toulouse

2000-2002 : DEUG Sciences de la Vie option Chimie, Université Paul Sabatier, Toulouse

II. PARCOURS PROFESSIONNEL

Depuis le 1^{er} Juin 2021 : **Ingénieur de Recherche CNRS** titulaire, affectée au **Laboratoire de Génie Chimique** (UMR 5503) – *Elaboration et caractérisation de nouveaux matériaux d'électrodes : fonctionnalisation et applications.*

12/2012-05/2021 : **Ingénieur de Recherche CNRS**, titulaire, affectée au **Laboratoire d'Etudes en Géophysique et Océanographie Spatiales** (UMR 5566) – *Développement de capteurs électrochimiques pour la détection in situ des sels nutritifs et de composés d'intérêts dans les eaux naturelles.*

01/2011-12/2012 : **Ingénieur de Recherche** CDD CNRS/OMP affectée au Laboratoire d'Etudes en Géophysique et Océanographie Spatiales – *Développement et mise au point d'un capteur électrochimique pour la détection des silicates et des phosphates sans ajout de réactif liquide.*

2009-2010 : **Ingénieur R&D** (3 mois) puis **Consultante R&D** pour Nemauro Pharma Limited, Loughborough (Angleterre) – *Développement d'un biocapteur à glucose utilisant le procédé d'iontophorèse : Mise au point d'un biocapteur totalement non-invasif.*

III. ACTIVITES D'ENSEIGNEMENT

2019-2020 : Animation de travaux pratiques : Réactivité et surface en Licence 3 Procédés Physico-Chimiques (45 heures) : *Polarographie ; Cinétique électrochimique ; Phénomènes de transport à l'électrode ; Absorption*

29 août - 10 septembre 2011 : Animation de travaux pratiques au 5th International SOLAS Summer School (IGBP/SCOR/WRCP/ICACGP) : *Détermination électrochimique de la concentration en silicate contenue dans des échantillons d'eau de mer prélevés au large d'Ajaccio à différentes profondeurs – Cargèse (France)* <http://www.solas-int.org/summerschool/>

2008 : Formation pratique en électrochimie : utilisation d'un potentiostat dispensée à un personnel technique et deux chercheurs de la société Pierre Fabre Dermocosmétique – Toulouse (France)

2007-2008 : Animation de travaux pratiques : méthodes électrochimiques d'analyse en Master 1 Chimie parcours Sciences Analytiques (30 heures) : 12 étudiants répartis sur 5 manipulations différentes – *Dosage des ions chlorures dans les eaux minérales par électrolyses à potentiel et intensité imposés ; Dosage de l'eau par la méthode de Karl Fisher ; Dosages de métaux contenus dans l'eau de ville par polarographie à redissolution anodique ; Dosage d'un polluant dans l'eau par voltammétrie impulsionnelle différentielle ; Détermination du mécanisme d'oxydation de la dopamine par voltammétrie cyclique*

2006-2007 : Animation de travaux pratiques : chimie générale en Licence 1 Science de la Vie préparation concours (33 heures) : 36 étudiants (12 étudiants par séance) – *pH-métrie et solutions tampons ; Dosages colorimétriques et complexométriques ; Etudes cinétiques ; Incertitudes*

IV. ACTIVITES DE RECHERCHE

Liste des publications internationales et nationales, des proceedings, de brevets, des brevets, des chapitres d'ouvrages et d'ouvrages (titres et noms de tous les auteurs)

Publications		Communications orales			Posters	
Articles	Chap. livre	avec actes	sans actes	séminaires invités		
13	1	13	3	5	6	
		4		4	5	International Français

Publications :

1. S. Abed, M. Gibilaro, P. Chamelot, A. David, **C. Barus**, L. Massot ; *The optimization of bimetallic electrodes' sensitivity using copper nucleation on metallic substrates* ; Electrochimica Acta 918 (2022) 116497
2. D. Chen Legrand, S. Mas, B. Jugeau, A. David, **C. Barus** ; *Silicate Marine Electrochemical Sensor* ; Sensors and Actuators B 335 (2021) 129705.
3. A. Daniel, A. Laes Huon, **C. Barus**, A.D. Beaton, D. Blandfort, N. Guigues, M. Knockaert, D. Munaron, I. Salter, M.E.S. Woodward, N. Greenwood, E.P. Achterberg ; *Towards a harmonization for using in situ nutrient sensors in the marine environment* ; Frontiers in Marine Science 6 (2020) 773.
4. **C. Barus***, D. Chen Legrand*, N. Striebig, B. Jugeau, A. David, M. Valladares, P. Munoz Parra, M. Ramos, B. Dewitte, V. Garçon ; *First deployment and validation of in situ silicate electrochemical sensor in seawater* ; Frontiers in Marine Science 5 (2018) 60, 1-11
5. D. Chen Legrand¹, **C. Barus***, V. Garçon ; *Square wave voltammetry measurements of low concentrations of nitrate using Au/AgNPs electrode in chloride solutions* ; Electroanalysis 29 (2017) 2882-2887
6. **C. Barus***, I. Romanytsia*, N. Striebig, V. Garçon ; *Toward an in situ phosphate sensor in seawater using Square Wave Voltammetry* ; Talanta 160 (2016) 417-424
7. D. Aguilar*, **C. Barus***, W. Giraud, E. Calas, E. Vanhove, A. Laborde, J. Launay, P. Temple-Boyer, N. Striebig, M. Armengaud, V. Garçon ; *Silicon-based electrochemical microdevices for silicate detection in seawater*, Sensors and Actuators B 211 (2015) 116-124
8. COCA Working Group ; Report from the Collaborative on Oceanography and Chemical Analysis (COCA) meeting held at the Department of Oceanography University of Hawaii, March 26-29, 2013 ; *The COCA and suggestions for future instrumental analysis methods in chemical oceanography* ; Virtual Special Issue in Marine Chemistry, 2014
9. J. Jońca, W. Giraud, **C. Barus**, M. Comtat, N. Striebig, D. Thouron, V. Garçon ; *Reagentless and silicate interference free electrochemical phosphate detection in seawater* ; Electrochimica Acta 88 (2013) 165-169
10. J. Jonca, **C. Barus**, W. Giraud, D. Thouron, V. Garçon, M. Comtat ; *Electrochemical behaviour of isopoly- and heteropolyoxomolybdates formed during anodic oxidation of molybdenum in seawater* ; International Journal of Electrochemical Science 7 (2012) 7325-7348
11. W. Giraud*, L. Lesven*, J. Jonca, **C. Barus**, L. Gourdal, D. Thouron, V. Garçon, M. Comtat ; *Reagentless and calibrationless silicates measurement in oceanic water* ; Talanta 97 (2012) 157-162

¹ Co-premiers auteurs

12. C. Barus, F. Wetz-Torond, Yves Brunel and P. Gros ; *Electrochemical Study of Antioxidant Regeneration Mechanisms – Application in Dermocosmetics* ; International Journal of Electrochemical Science 7 (2012) 5429 – 5441

13. C. Barus, P. Gros, M. Comtat, S. Daunes-Marion, R. Tarroux ; *Electrochemical behaviour of N-acetyl-L-cysteine on gold electrode - A tentative reaction mechanism* ; Electrochimica Acta 52 (2007) 7978-7985

Ouvrage scientifique :

C. Barus, D. Chen Legrand, I. Romanytsia, N. Striebig, B. Jugeau, A. David, M. Valladares, P. Munoz Parra, M. Ramos, B. Dewitte, V. Garçon ; *Nutrients electrochemical sensors in E. Delory and J. Pearlman, Challenges and Innovations in Ocean In Situ Sensors (2019) Elsevier Inc. pp. 50-64.*

Enveloppe SOLEAU :

C. Barus, J. Jońca, W. Giraud, L. Lesven, D. Thouron, E. Vanhove, J. Launay, P. Lacroix, P. Temple-Boyer, M. Belot, N. Striebig, M. Armengaud, M. Comtat, V. Garçon ; *ANESIS : Capteurs électrochimiques autonomes pour la detection in situ des Silicates et des Phosphates* ; Enveloppe Soleau n°478140 300413 (2013)

Communications orales :

avec actes et comité de lecture :

1. S. Abed, M. Gibilaro, P. Chamelot, A. David, **C. Barus**, L. Massot ; *High Sensitivity Bimetallic Electrode Generation Through the Study of Copper Electrocristallisation on Metallic Substrates (Md/Ms) in Acidic Media* ; ECS Meeting, **Vancouver** (Canada) 29 Mai – 2 Juin **2022**

2. D. Chen Legrand, A. David, **C. Barus** ; Autonomous Silicate Electrochemical Sensor in Seawater ; ECS & International Meeting on Chemical Sensors (IMCS) meeting, **Montréal** (Canada) 10-14 Mai **2020** (**abstract publié, conférence annulée dû au Covid-19**)

3. D. Chen Legrand, **C. Barus**, N. Striebig, A. David, B. Jugeau, V. Garçon ; *Capteurs électrochimiques pour la mesure in situ des sels nutritifs dans l'eau de mer : Caractérisations et Déploiements* ; Journées d'Electrochimie, **Toulouse** (France) 1-4 Juillet **2019**

4. S. Abed, M. Gibilaro, P. Chamelot, V. Garçon, **C. Barus**, L. Massot ; *Détection électrochimique des nitrates dans l'eau de mer* ; Journées d'Electrochimie, **Toulouse** (France) 1-4 Juillet **2019**

5. **C. Barus**, I. Romanytsia, N. Striebig, V. Garçon ; *Toward An In situ Electrochemical Sensor Measuring Phosphate Concentration In Seawater* ; ElectroChemical Society (ECS) Meeting, **Nouvelle Orléans** (Louisiane, Etats-Unis) 28 Mai-1^{er} Juin **2017**

6. I. Romanytsia, D. Chen Legrand, **C. Barus**, N. Striebig, V. Garçon ; *Electrochemical sensors for in situ phosphate and nitrate measurements in seawater* ; ASLO (Ocean Sciences Meeting), **Nouvelle Orléans** (Louisiane, Etats-Unis) 21-26 Février **2016**

7. **C. Barus**, D. Aguilar, J.P. Savy, N. Striebig, M. Armengaud, M. Comtat, V. Garçon ; *Development of miniaturized autonomous silicate and phosphate sensors* ; ASLO Meeting, **Grenade** (Espagne) 22-28 Février **2015**

8. D. Chen Legrand, **C. Barus**, M. Comtat, E. Tailhades, K. Fajerberg, P. Fau, M. Kahn, V. Garçon ; *Gold Electrode Modified with Silver Nanoparticles for In situ Nitrate Detection in Sea Water* ; ASLO Meeting, **Grenade** (Espagne) 22-28 Février **2015**

9. V. Garçon, **C. Barus**, W. Giraud, J. Jońca, M. Comtat, M. Armengaud, N. Striebig, P. Temple, P. Lacroix ; *Electrochemical microsensor for in situ measurements of dissolved silicate in marine systems* ; ASLO (Aquatic Sciences Meeting), **Nouvelle Orléans** (Louisiane, Etats-Unis) 17-22 Février **2013**

10. **C. Barus**, W. Giraud, D. Thouron, M. Comtat, V. Garçon, M. Armengaud, N. Striebig ; *Electrochemical microsensor for in situ measurements of dissolved silicate in marine systems* ; European Geosciences Union (EGU) meeting, **Vienne** (Autriche), 22-27 Avril **2012**

11. **C. Barus**, P. Gros, M. Comtat ; *Etude électrochimique de mécanismes de régénération d'antioxydants - Aide à la formulation de crèmes dermocosmétiques* - XI^{ème} colloque du Groupe Français de Bioélectrochimie, **Lacanau** (France), 29 Septembre-2 Octobre. **2008**

12. **C. Barus**, L. Latapie, P. Gros, M. Comtat. *Use of cyclic voltammetry to investigate chemical reaction between antioxidant molecules* - 59th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, **Seville** (Espagne), 7-12 Septembre **2008**

13. **C. Barus**, P. Gros, M. Comtat. *Electrochimie de la N-Acétyl-L-Cystéine, molécule à large spectre thérapeutique* - Journées d'Electrochimie, **Lyon** (France), 2-6 Juillet **2007**

avec actes :

14. J. Jońca, **C. Barus**, W. Giraud, D. Thouron, V. Garçon, M. Comtat ; Reagentless electrochemical phosphate and silicate detection in seawater ; Voltammetry and GEOTRACES, European Science Foundation COST 801 Meeting, **Šibenik** (Croatie) 6-9 Octobre **2012**

15. W. Giraud, **C. Barus**, D. Thouron, M. Comtat and V. Garçon ; *Electrochemical microsensors for in situ measurements of dissolved silicate in marine systems* ; 15th Biennial Challenger, Conference for Marine Science, University of East Anglia, **Norwich** (Royaume-Uni) 3-6 Septembre **2012**

16. J. Jońca, **C. Barus**, W. Giraud, D. Thouron, M. Comtat, V. Garçon ; *Electrochemical methods for phosphate monitoring in the ocean* ; XVI^e Transfrontaliar Meeting on Sensors and Biosensors, **Toulouse** (France), 29-30 Septembre **2011**

17. **C. Barus**, P. Gros and M. Comtat ; *Electrochemistry of N-Acetyl-L-Cysteine - Application to the evaluation of antioxidant properties in dermocosmetics* - XI^{ème} Rencontre Transfrontalière Capteurs et Biocapteurs, **Gérone** (Espagne) 14-15 Septembre **2006**

sans acte :

18. **C. Barus**, D. Chen Legrand, N. Striebig, B. Jugeau, A. David, M. Ramos, B. Dewitte, V. Garçon ; *Capteur électrochimique pour la mesure des silicates dans l'eau de mer : premiers déploiements et validation* ; Journée Toulousaine d'Electrochimie, **Toulouse** (France) 12 Juillet **2018**

19. I. Romanytsia, D. Chen Legrand, **C. Barus**, N. Striebig, V. Garçon ; *Capteurs électrochimiques pour la mesure in situ des sels nutritifs dans l'océan* ; Journée Toulousaine d'Electrochimie, **Toulouse** (France) 12 Juillet **2016**

20. J. Jońca, **C. Barus**, W. Giraud, D. Thouron, V. Garçon, M. Comtat ; *Comportement électrochimique de isopoly et hétéropolyoxomolybdates formés lors de l'oxydation du molybdène dans l'eau de mer* ; Journée Toulousaine d'Electrochimie, **Toulouse** (France) 17 Juillet **2012**

conférences et séminaires invités :

21. **C. Barus** ; Exemple du capteur électrochimique Silicate : du principe de mesure au capteur *in situ* ; Séminaire "Valoriser un développement instrumental" à l'Observatoire Midi-Pyrénées, **Toulouse** (France) 24 Février **2020**

22. **C. Barus**, D. Chen Legrand, V. Garçon ; *From principles to in situ nutrients sensors* ; Workshop « Interoperability of Technologies and Best Practices : in situ applications to nutrient and phytoplankton fluorescence measurements » ; **Brest** (France) 4-6th December **2018**

23. **C. Barus**, D. Chen Legrand, N. Striebig, B. Jugeau, A. David, M. Ramos, B. Dewitte, V. Garçon ; *Capteurs électrochimiques pour la mesure des silicates et des phosphates dans l'eau de mer : premiers déploiements et validation* ; Colloque annuel RESOMAR (Réseau des Stations et Observatoires Marins), **Perpignan** (France) 13 Novembre **2018**

24. **C. Barus**, D. Chen Legrand, V. Garçon ; *Electrochemistry: powerful tool to develop in situ, autonomous sensors to detect nutrients in seawater* ; Séminaire invité, Universidad Católica del Norte, Facultad de Ciencias del Mar – **Coquimbo** (Chili) 20 Avril **2017**

25. V. Garçon, **C. Barus**, W. Giraud, J. Jońca, L. Lesven, D. Thouron, M. Armengaud, N. Striebig, M. Comtat, J. Launay, P. Temple-Boyer, E. Vanhove, P. Lacroix, K. Fajerwerb ; *Marine biogeochemical cycling: Are we emerging from a data limited world?* ; Environnement sensors, **Anglet** (France) 23-28 Septembre **2012**

26. **C. Barus**, W. Giraud, D. Thouron, M. Comtat, V. Garçon, M. Armengaud, N. Striebig ; *Microcapteur électrochimique pour la détection in situ des silicates en milieu marin* ; Atelier Expérimentation et Instrumentation - INSU - CNRS, **Paris** (France) 28-30 Mars **2012**

27. **C. Barus**, V. Garçon, W. Giraud, J. Jońca, L. Lesven, D. Thouron, M. Armengaud, N. Striebig, M. Comtat, K. Fajerwerb, P. Lacroix, J. Launay, P. Temple-Boyer, E. Vanhove ; *Microsensors for in situ measurements of dissolved macronutrients in marine systems* ; MAISOE workshop, **Aspet** (France), 21-23 Novembre **2011**

28. W. Giraud, **C. Barus**, J. Jońca, D. Thouron, V. Garçon, M. Armengaud, N. Striebig, E. Vanhove, J. Launay, P. Lacroix, P. Temple-Boyer, M. Comtat ; *ANESIS: Autonomous Nutrients Electrochemical Sensor In situ for silicates detection* ; SENSEnet Workshop, **Sylt** (Allemagne), 4-9 Septembre **2011**

29. **C. Barus**, W. Giraud, D. Thouron, V. Garçon, N. Striebig, M. Armengaud, M. Comtat, P. Gros, P. Temple-Boyer, E. Vanhove, P. Lacroix, J. Launay ; *ANESIS : Capteurs in situ pour la détection de sels nutritifs* ; Action Nationale de Formation INSU/CNRS : Océanographie– Mesures– Consommation–Vecteurs–Transmission, **Satillieu** (France), 23-26 Mai **2011**

Communications par affiche :

1. **C. Barus**, S. Abed, M. Gibilaro, P. Chamelot, L. Massot ; *Détection électrochimique des nitrates dans les eaux naturelles : Contrôle du procédé de traitement de surface des électrodes* ; 18^{ème} congrès de la Société Française de Génie des Procédés, **Toulouse** (France) 7-10 Novembre **2022**
2. D. Chen Legrand, **C. Barus**, N. Striebig, V. Garçon ; Autonomous Silicate Electrochemical Sensor In Seawater ; ECS Meeting (The Electrochemical Society), **Nouvelle Orléans** (Louisiane, Etats-Unis) 28 Mai-1^{er} Juin **2017**
3. D. Chen Legrand, P. Behra, **C. Barus**, B. Dubreuil, K. Fajerweg, P. Fau, V. Garçon, M. Kahn, E. Lebon Tailhades, G. Merlina ; *MIACTIS « Microsystèmes intégrés pour l'analyse de composés en traces in-situ »* ; 4th Fall Meeting STAE, **Toulouse** (France) 13 Novembre **2014**
4. **C. Barus**, J. Jonca, W. Giraud, E. Calas, D. Aguilar, D. Legrand, N. Striebig, M. Armengaud, K. Fajerweg, M. Comtat, V. Garçon ; *ANESIS: Autonomous Nutrient Electrochemical Sensor In situ* ; **Journée Toulousaine d'Electrochimie, Toulouse (France) 21 Juillet 2014**
5. **C. Barus**, J. Jońca, W. Giraud, N. Striebig, M. Armengaud, K. Fajerweg, M. Comtat, V. Garçon ; *10 years after a first Transfrontier discussion : Electrochemical sensor for oceanography – the ANESIS sensor* ; XVII^{èmes} Rencontres Transfrontalières capteurs et biocapteurs, **Alès** (France) 19-20 Septembre **2013**
6. **C. Barus**, J. Jońca, W. Giraud, N. Striebig, M. Armengaud, K. Fajerweg, M. Comtat, V. Garçon ; *ANESIS: Autonomous Nutrient Electrochemical Sensor In situ* ; COCA Meeting (Collaborative on Oceanographic Chemical Analysis), **Honolulu** (Hawaii, Etats-Unis) 26-29 Mars 2013
7. W. Giraud, **C. Barus**, J. Jońca, D. Thouron, N. Striebig, M. Comtat, V. Garçon ; *Autonomous electrochemical sensor for in situ silicates detection and quantification in sea water* ; Environmental sensors, **Anglet** (France) 23-28 Septembre **2012**
8. J. Jońca, W. Giraud, **C. Barus**, M. Comtat, N. P. Revsbech, D. Thouron, V. Garçon ; *Méthodes électrochimiques pour la surveillance autonome des espèces chimiques (oxygène et phosphate) dans l'eau de mer* ; Journée Toulousaine d'Electrochimie, **Toulouse** (France) 17 Juillet **2012**
9. W. Giraud, **C. Barus**, J. Jońca, D. Thouron, N. Striebig, M. Comtat, V. Garçon ; *Capteur électrochimique autonome pour la détection et le dosage in situ des silicates dans l'océan* ; Journée Toulousaine d'Electrochimie, **Toulouse** (France) 17 Juillet **2012**
10. W. Giraud, L. Lesven, **C. Barus**, J. Jońca, D. Thouron, M. Comtat, V. Garçon ; *Autonomous electrochemical sensor for in situ silicates detection and quantification in sea water* ; XVI^e Transfrontaliar Meeting on Sensors and Biosensors, **Toulouse** (France), 29-30 Septembre **2011**
11. P. Gros, **C. Barus**, M. Comtat ; *Coupling electrochemical reactions with homogeneous or heterogeneous chemical catalytic reactions involving antioxidants species - A tool for dermocosmetic formulation processes* - XII^{ème} Congress of Société Française de Génie des Procédés, **Marseille** (France), 14-16 Octobre **2009**

V. ACTIVITES D'ENCADREMENT :

Encadrement doctoral :

Co-directrice de thèse (50%) avec Laurent Massot (MdC LGC, HDR) de la thèse de Sherif Abed (01/10/2019 – 31/08/2022) – Développement d'un capteur électrochimique pour la détection des nitrates dans l'eau de mer à l'aide de nouveaux matériaux d'électrodes bimétalliques.

Doctorat réalisé au LEGOS et au LGC dans le cadre du projet NESS (Nitrate Electrochemical SenSor) co-financé par la Région Occitanie et la société française nke Instrumentation.

Encadrement post-doctoral (% encadrement) :

01/12/2020 – 31/05/2022 (18 mois) : Dancheng Chen Legrand, post-doctorante sur le projet européen (H2020-BG07) NAUTILUS (New Approach to Underwater Technologies for Innovative, Low-cost Ocean obServation) – Implémentation du capteur Silicate sur profileur ARGO. (100 %)

01/09/2018 – 30/09/2020 (25 mois) : Dancheng Chen Legrand, post-doctorante sur le projet H2020/ANR OCEANSensor – Optimisation et caractérisation des capteurs électrochimiques pour la détection *in situ* des silicates et des phosphates dans l'eau de mer. (100 %)

01/05/2016 – 30/09/2017 (17 mois) : Dancheng Chen Legrand, post-doctorante sur le projet européen (FP7) SenseOCEAN – Test, validation et premiers déploiements du capteur électrochimique pour la mesure des silicates dans l'eau de mer. Influence de la température. (80 %)

01/03/2015 – 31/08/2016 (18 mois) : Ivan Romanytsia, post-doctorant sur le projet européen (FP7) SenseOCEAN – Mesure de la concentration en phosphate dans l'eau de mer sans ajout de réactif liquide par voltammétrie à vague carrée. (80 %)

02/06/2014 – 01/12/2015 (18 mois) : Dancheng Chen Legrand, post-doctorante sur le projet du RTRA-STAE MIACTIS du Chantier ICE – Détection de faibles concentrations en nitrate dans l'eau de mer par voltammétrie à vague carrée sur électrode d'or modifiée par des nanoparticules d'argent. (80 %)

01/07/2014 – 31/12/2015 (18 mois) : Jean-Philippe Savy : Post-doctorant sur le projet européen (FP7) ICE-ARC – Déploiements de capteurs bio-optiques commerciaux sur plateforme IAOOS (Ice, Atmosphere, Arctic Ocean Observing System) en Arctique. (70 %)

01/03/2014 – 31/12/2014 (9 mois) : David Aguilar, post-doctorant sur le projet européen (FP7) SenseOCEAN – Caractérisation de microdispositifs intégrés en technologie silicium pour la détection des silicates dans l'eau de mer. Mise au point d'une méthode électrochimique permettant la détection des phosphates sans agiter la solution. (80 %)

01/12/2012 – 31/03/2013 (4 mois) : William Giraud, post-doctorant sur le projet MAISOE (RTRA-STAE) – Mise au point d'une méthode électrochimique de détection des silicates dans l'eau de mer sans ajouts de réactif liquide. (20 %)

Encadrement Master 2 :

31/01/2022 – 22/07/2022 (~6 mois) : Alexandra Brusq, stagiaire M2 en Procédés pour la Chimie, l'Environnement et l'Energie, Université Paul Sabatier, LGC, Toulouse – Développement d'un capteur électrochimique pour la détection des nitrates dans les eaux naturelles. (50 %)

04/02/2019 – 26/07/2019 (~6 mois) : Sherif Abed, stagiaire M2 en Procédés pour la Chimie, l'Environnement et l'Energie, Université Paul Sabatier, LEGOS et LGC, Toulouse – Détection électrochimique des nitrates dans l'eau de mer. (50 %)

Encadrement AI (CDD, CNRS) : 15/02/2014 – 30/06/2014 Elisa Calas embauchée dans le cadre de la collaboration entre le LEGOS et Véolia Environnement Recherche Innovation – Etude de la faisabilité des méthodes potentiométriques et voltammétriques pour la mesure des sulfures dans les eaux usées. (100 %)

Encadrement de stagiaires IUT :

04/04/2016 – 24/06/2016 : Tutrice de stage de Pierre Boutet, stagiaire DUT Mesures Physiques : Mention Matériaux et contrôles physico-chimiques, IUT A Université Paul Sabatier, Toulouse – Détection des nitrates sur électrode d'or modifiée par des nanoparticules d'argent dans l'eau de mer par voltammétrie à vague carrée. (100 %)

14/04/2014 – 29/08/2014 : Co-encadrement de Sidney Roussel, stagiaire Technicien Supérieur de la Mer : Conservatoire National des Arts et Métiers, Institut national des sciences et techniques de la mer (CNAM, Intechmer), Cherbourg-Octeville – Analyses colorimétriques d'échantillons d'eau de mer de la campagne AMOP au large du Pérou : cas des phosphates et des nitrites. (70 %)

08/04/2013 – 21/06/2013 : Tutrice de stage d'Elisa Calas, stagiaire DUT Mesures Physiques : Mention Matériaux et contrôles physico-chimiques, IUT A Université Paul Sabatier, Toulouse – Etude d'un prototype de micro-capteur électrochimique pour la mesure des silicates en milieu marin. (100 %)

10/04/2012 – 06/07/2012 : Tutrice de stage de Pierre Azaïs, stagiaire DUT Mesures Physiques : Mention Techniques Instrumentales, IUT A Université Paul Sabatier, Toulouse – Etude et validation d'un prototype de capteur électrochimique pour la mesure des silicates en milieu marin. (100 %)

VI – AUTRES

Responsabilités et implication pour le collectif :

- **Sauveteur Secouriste du Travail**
- Membre élue au **Conseil Scientifique de l'Observatoire Midi-Pyrénées** (2 mandats effectués entre Janvier 2016 et Juin 2021) où j'ai été rapporteur et évalué les réponses aux appels à projet financés par l'OMP chaque année.
- Correspondante égalité (2019-2020)
- Représentante **CHSCT** au CS de l'OMP de Novembre 2019 à Juin 2021
- Membre du Groupe de Travail « Instrumentation » de l'Observatoire Midi-Pyrénées

- Appui aux Agents de Prévention du LEGOS : participation aux audits et réunions sur le transport et stockage des matières dangereuses
- Reviews publications (Electroanalytical Chemistry, Talanta, Electrochimica Acta, Sensors&Actuators B, ACS Sensors)

Organisation meetings :

- Organisation du meeting annuel OCEANSensor à Toulouse les 19 et 20 Novembre 2019 (11 personnes)
- Membre du comité d'organisation des Journées d'Electrochimie de Toulouse en 2019 (Organisateurs : Pr. Pierre Gros et Pr. Karine Groenen Serrano, Laboratoire de Génie Chimique)
- Organisation du meeting annuel SenseOCEAN à Toulouse en 2015 (40 personnes sur 2 jours)
- Membre du comité d'organisation d'un workshop à Nailloux du 17-19 Novembre 2014 « Autour des capteurs environnementaux : échantillonnage, préparation, protection » dans le cadre du chantier ICE (Instrumentation et Capteurs Environnementaux du RTRA-STAE)

Management et gestion de projets :

Mes activités de recherche au LEGOS étaient centrées sur le développement de capteurs électrochimiques pour la mesure *in situ* de composés d'intérêts dans l'océan ouvert : ANES/IS : Autonomous Nutrients Electrochemical Sensor *In Situ*.

A mon arrivée au LEGOS (2 ans de CDD en 2011-2012), j'ai participé à 3 projets que je cogérais (avec la responsable d'équipe) avec une prise en charge des responsabilités administrative et financière à partir de début 2012 :

2009-2013 : **MAISOE** : Microlaboratoires d'Analyses *In situ* pour des Observatoires Environnementaux du RTRA-STAE sur la détection des silicates et des nitrates (~195 k€) ;

2009-2013 : **SenseNET** : International Sensor Development Network sur la détection des phosphates (UE, FP7, Initial Training Network Marie Curie) (~200 k€) ;

2013-2017 : **ICE-ARC** (Ice, Climate, Economics – Arctic Research on Change, UE FP7) : déploiements dans l'océan Arctique de capteurs optiques commerciaux ; organisation des campagnes de déploiements en Arctique (180 k€).

Depuis ma titularisation en Décembre 2012, je dépose, gère et manage à part entière des projets européens (FP7, H2020), nationaux (RTRA-STAE, ANR, Région Occitanie), et contrats industriels (VERI, nke Instrumentation). J'ai en charge l'animation scientifique des projets, l'encadrement des post-doc, stagiaires, CDD et le management des projets et des différents collaborateurs (interne : GIS-OMP, externes : sous-traitants, partenaires industriels), la rédaction des rapports, livrables et restitutions (écrites et orales), les montages et justifications administratives et financières des projets.

2013-2017 : **SenseOCEAN** (<http://www.senseocean.eu/>) sur le développement des capteurs silicate et phosphate : Call européen Ocean of Tomorrow FP7 ; Leader du Work Package : « Testing and Validation » (projet de ~6 M€ dont ~450 k€ au CNRS-LEGOS) ;

2013-2017 : **MIACTIS** (Microsystèmes intégrés pour l'analyse de composés en traces *in-situ*), sur la mesure électrochimique des nitrates financé par le RTRA-STAE dans le cadre du chantier ICE (Instrumentation et Capteurs Environnementaux (18 mois IR + 20 k€) ;

2014 (7 mois) : projet de collaboration avec **Véolia Environnement Recherche Innovation** (VERI) sur la détection des sulfures dans les eaux usées (18 k€) ;

2018-2021 : **OCEANSensor** (Call MarTERA H2020-FP7 financé par l'ANR) visant à améliorer nos capteurs silicate et phosphate (2018-2021) Responsable scientifique pour le LEGOS et Work Package leader (projet de 1,5 M€ financé en France par l'ANR à hauteur de 250 k€) ;

2019-2022 : **NESS (Nitrate Electrochemical SenSor)** : 2 stages M2 (autofinancés) + Thèse LEGOS/LGC (120 k€) (co-directrice de thèse) co-financée par la Région Occitanie et la société nke Instrumentation avec qui je collabore depuis plusieurs années – Environnement de la thèse financé (15 k€) par l'AOIL-projet du LEGOS

2020-2024 : **NAUTILOS** (New Approach to Underwater Technologies for Innovative, Low-cost Ocean obServation) projet européen sur l'implémentation du capteur silicate développé au LEGOS sur profileur type ARGO – sub-task leader (projet de 9M€ dont ~200 k€ au CNRS-LEGOS).

Depuis le 1^{er} Juin 2021, je suis affectée au Laboratoire de Génie Chimique au sein du département Procédés Electrochimiques où j'ai commencé un nouveau projet de conception de nouveaux matériaux d'électrodes (congé maternité du 26 Juin 2021 avec reprise travail le 10 Janvier 2022).

Formations permanentes :

Depuis mon entrée au CNRS, j'ai suivi différentes formations et participé à des ateliers, écoles thématiques dans le but d'améliorer mes compétences opérationnelles sur mon poste ou d'acquérir des connaissances nouvelles et un savoir-faire utile pour le collectif, essentiellement dans le domaine hygiène, sécurité et conditions de travail.

Formations opérationnelles (management, gestion projet, scientifique) :

25-26 Novembre 2019 : Formation « **Encadrement de thèse** » organisée par la DR14, Toulouse

6 Septembre 2017 : Formation « **Savoir mettre en œuvre un protocole d'études ou d'expérimentation** » organisée par la DR14, Toulouse

2 Octobre 2015 : **Atelier Propriété Intellectuelle**, organisé par Toulouse Tech Transfert, Maison de la Recherche et de la Valorisation, Toulouse

9-11 Octobre 2013 : Formation permanente « **Management de projet** » organisée par la DR14, Toulouse

2-4 Décembre 2013 : Atelier « **Nano-matériaux, nano-objets pour la détection et les capteurs** » du Chantier Instrumentation & Capteurs Environnementaux de la fondation STAE-RTRA

2-5 Avril 2012 : Ecole de printemps « **Techniques de Microcaractérisation** » organisée par le Club MEB – Association Midi-Pyrénéenne de Micro et Nano Caractérisations - Toulouse

28-30 Mars 2012 : **Atelier « Expérimentation et Instrumentation »** CNRS, INSU - Paris

9-18 Janvier 2012 : **Cours d'océanographie physique** : propriétés physiques et dynamique à grande échelle (cours dispensés pour le Brevet Supérieur des marins météorologistes océanographes de la Marine Nationale) - Ecole nationale de la Météorologie - Toulouse

26-29 Septembre 2011 : Ecole thématique technique de l'INSU : « **Organisation des Projets - Management, Outils et Ressources Humaines** » - Satillieu (France)

23-26 Mai 2011 : Ecole thématique technique de l'INSU : « **Océanographie : Mesures - Consommation Vecteurs – Transmission** » - Satillieu (France)

Formations transverses :

23 et 25 Juin 2020 : Formation « **Egalité professionnelle** » et « **Lutte contre les violences sexuelles et sexistes** » organisée pour la DR14, Toulouse

4-5 Février 2019 : Formation « **Correspondant.e.s égalité** » organisée par la DR14, Toulouse

2-4 Octobre 2018 : Formation « **Secourisme en milieu isolé et/ou hostile** » Action Nationale de Formation organisée à la DR5 Campus de Meudon Bellevue, Meudon (92)

7 Avril 2015 : Formation « **Manipulation d'extincteur** » organisée à l'Observatoire Midi-Pyrénées, Toulouse

22 Janvier 2015 : Formation « **Transport des matières dangereuses** » organisée par ULISSE, à la délégation régionale Midi-Pyrénées, Toulouse

6-7 Octobre 2014 : Formation initiale « **Sauveteur Secouriste du Travail** » (**recyclages en 2016, 2018, 2020**), organisée par la DR14, Toulouse

21 Mars 2014 : Formation permanente « **Risque Chimique de niveau I** » organisée par la DR14, Toulouse

Missions embarquées / sur site :

8-29 Juillet 2019 : Responsable du déploiement d'un capteur silicate à 1,5 m de profondeur dans l'étang de Thau à Sète – Test d'inter-comparaison avec les mesures colorimétriques.

3-13 Mai 2019 : Chef de mission – Déploiement de 2 capteurs silicate sur une ligne de mouillage à 100 m de profondeur au large de l'île de Pâques dans l'océan Pacifique – Calibration on site avant déploiement – Analyses de 2 séries de 219 voltammogrammes.

9-12 Mai 2017 : Chef de mission – Déploiement d'un véhicule sous-marin profileur (PROVOR) implémenté de capteurs SenseOCEAN depuis le navire français Sagitta III au large de Villefranche-sur-mer.

14-26 Mai 2017 : Chef de mission : déploiement en mer du capteur silicate sur une ligne de mouillage au large de Coquimbo, Chili – 1 semaine de données de silicate enregistrées en haute fréquence (toutes les heures) à Talcaruca Point, zone la plus intense de l'upwelling du centre-nord du Chili.

12-20 Septembre 2016 : Tests et validations des capteurs SenseOCEAN – Déploiement de la 1^{ère} version du capteur silicate depuis un ponton dans la baie de Kiel ainsi que dans le Fjord de Kiel sur une rosette depuis la Littorina (2 jours de mer).

12-16 Mai 2014 : Mission Semaine d'essais d'inter-comparaison électrochimie/colorimétrie au centre de recherche VERI de Maisons-Laffitte. Mesures des sulfures en flux continu dans les eaux usées.

23 Janvier-22 Février 2014 : Mission AMOP : Activités de recherche dédiées à la zone de minimum d'oxygène du Pacifique Est, au large de Pérou sur le navire français l'Atalante : mesure colorimétrique des sels nutritifs - Correspondante produits chimiques à bord.

Signature de la candidate

A handwritten signature in black ink, featuring a large, stylized 'S' and 'A' followed by a horizontal line and a vertical stroke.

Procédés électrochimiques : des capteurs embarqués aux matériaux d'électrode

Ce manuscrit présente une synthèse de mes activités de recherche menées à l'Université de Toulouse III – Paul Sabatier, au Laboratoire d'Etudes en Géophysique et Océanographie Spatiales entre 2011 et 2021 et au Laboratoire de Génie Chimique depuis 2021.

La Chapitre I présente les acquis théoriques et le savoir-faire expérimental qui ont été mis à profit pour la suite de ma carrière. Une méthodologie séquentielle d'étude de milieux complexes, tels que les crèmes dermocosmétiques a été développée, partant de l'étude du mécanisme d'oxydation d'une molécule d'intérêt dans un électrolyte « simple » puis complexifiant le milieu pour étudier sa réactivité en association avec d'autres molécules jusqu'à la caractérisation d'une composition proche d'une crème commerciale.

Mon expérience en électrochimie analytique a été sollicitée au cours des 10 années passées au LEGOS pour le développement de méthodes de dosage des sels nutritifs (silicate, phosphate, nitrate) dans l'eau de mer jusqu'à la conception de capteurs embarqués. Les silicates et les phosphates sont détectés de façon indirecte après complexation avec les molybdates en milieu acide, réactifs générés *in situ* par oxydation d'une électrode de molybdène. L'ensemble des problématiques liées au développement d'un capteur électrochimique est illustré au Chapitre II, jusqu'à la fabrication et la validation opérationnelle en mer d'un capteur pour le dosage des silicates.

Un volet plus fondamental de mes recherches et qui marque une transition dans ma carrière est présenté au Chapitre III. La détection directe des nitrates dans les eaux naturelles a été proposée au moyen d'électrodes bimétalliques à base de nanoparticules de cuivre dont une caractérisation du procédé de dépôt par une étude de nucléation et une optimisation de charge ont été nécessaires pour contrôler la sensibilité de l'électrode et répondre au cahier des charges fixé.

Enfin, je présente dans une dernière partie du manuscrit mes projets et perspectives de recherche qui se recentrent sur des problématiques plus fondamentales, avec de larges perspectives d'applications et de collaborations, centrées sur le traitement électrolytique de surface pour augmenter la sensibilité de l'électrode ainsi que l'élaboration de nouveaux matériaux d'électrode à base de dopage de substrats carbonés et métalliques avec des hétéroatomes (N, P,...) par dépôt réactif à haute température en milieu sels fondus.

