

Article original

## Quantification de l'ammoniac dans des échantillons de contenu de rumen et de fermenteur à l'aide d'une électrode à diffusion gazeuse

L Broudiscou, Y Papon

INRA-Theix, station de recherche sur la nutrition des herbivores,  
63122 Saint-Genès-Champanelle, France

(Reçu le 11 octobre 1993; accepté le 17 février 1994)

**Résumé** — Nous avons évalué l'intérêt d'une électrode à diffusion gazeuse pour quantifier l'ammoniac présent dans des échantillons de jus de rumen et de fermenteur. Les quantités d'amines volatiles présentes ont été trop faibles pour pouvoir interférer avec la mesure. L'effet de mémoire n'a significativement altéré la mesure qu'aux limites de l'intervalle de concentration considéré. Les valeurs obtenues avec l'électrode à ammoniac ont été linéairement corrélées à celles obtenues par la méthode colorimétrique standard (pente = 1,009 ;  $R = 0,998$ ).

**jus de rumen / ammoniac / électrode à ammoniac**

**Summary** — **Quantification of ammonia in rumen and fermentor fluid samples by a gas-sensing electrode.** *The use of an electrode for the determination of ammonia in rumen and fermentor fluid samples has been evaluated. The amount of interfering volatile bases was negligible in our samples. The memory effect was only significant at the limits of the ammonia concentration range. The results from the electrode method were linearly correlated with the values from the standard colorimetric method (slope = 1.009;  $R = 0.998$ ).*

**rumen fluid / ammonium / ammonia electrode**

### INTRODUCTION

Dans le rumen, l'ammoniac produit par les activités uréasique ou de désamination associée à la protéolyse est en partie incorporé dans les protéines microbiennes par des voies enzymatiques différentes selon sa concentration dans le milieu. La teneur en

ammoniac, sous les formes dissoute et d'ion ammonium  $\text{NH}_4^+$ , est une variable indispensable pour décrire le faciès fermentaire dans le rumen ou dans les fermenteurs ensemencés par des micro-organismes du rumen. Cette teneur est en général mesurée par distillation-titrimétrie (Directive CEE, 1971), par microdiffusion-titrimétrie (Conway, 1957 ; Directive CEE, 1971) ou

par colorimétrie (Davies et Taylor, 1965). Cependant, des électrodes à diffusion gazeuse ont été utilisées avec succès pour la quantification de l'ammoniac dans les extraits de sols et les eaux (Banwart *et al*, 1972) puis dans les déchets riches en matières organiques (LeDuy et Samson, 1982 ; Sievers *et al*, 1984) et dans les rejets de porcherie (Manca *et al*, 1989). Les avantages de ces méthodes sont leur simplicité et leur rapidité. Nous avons donc éprouvé une électrode de ce type avec des contenus de rumen et de fermenteur.

Les buts de ce travail ont été : i) d'adapter un mode opératoire aux caractéristiques physico-chimiques de nos échantillons ; ii) d'évaluer l'ampleur des interférences dues à la présence éventuelle d'amines volatiles ; iii) d'évaluer l'ampleur de l'effet de mémoire dans l'intervalle de concentration de nos échantillons.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

Nous avons utilisé une électrode à  $\text{NH}_3$  Ingold (réf 15 230 3000, Ingold France, Paris). Elle comprend un module à membrane hydrophobe perméable aux gaz dans lequel est placée une électrode combinée de pH (électrode de référence à Ag/AgCl) immergée dans 1 ml de solution d'électrolyte (Ingold réf 15 230 2000) et branchée à un millivoltmètre électronique Schott Geräte CG 820 (Hofheim, Allemagne).

Le principe de fonctionnement d'une électrode à diffusion gazeuse est le suivant : l'augmentation du pH au-delà de 11,0 par ajout de soude transforme les ions ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) en  $\text{NH}_3$  qui diffuse à travers la membrane jusqu'à égalité de ses pressions partielles de part et d'autre de cette membrane ; la dissolution de  $\text{NH}_3$  dans l'électrolyte de remplissage modifie le pH de celui-ci, par l'établissement d'un équilibre entre  $\text{NH}_3$  et  $\text{NH}_4^+$  ; puisque la concentration de  $\text{NH}_4^+$  dans l'électrolyte de remplissage peut être considérée comme constante, la tension mesurée par l'électrode combinée de pH varie en fonction de la concentration de  $\text{NH}_3$  selon une loi nerstienne.

Une cellule de 55 ml (fig 1) a été réalisée pour respecter les recommandations du constructeur

(Ingold manuel d'instruction) tout en permettant des mesures en série avec les volumes les plus faibles possibles, soit 20 ml. Ces recommandations sont les suivantes : les récipients de mesure doivent être fermés ; les solutions d'étalonnage et les échantillons doivent être à la même température ; toutes les mesures doivent être faites dans les mêmes conditions d'agitation, même vitesse, même barreau aimanté, même distance de la sonde au barreau. La cellule que nous avons utilisée est rendue étanche aux gaz de l'étape d'alcalinisation de la solution jusqu'à la mesure. Elle peut recevoir les échantillons, la solution de NaOH 10 N et les solutions de rinçage puis être entièrement vidée sans déplacement de l'électrode. Le risque d'un échauffement de la cellule au cours des mesures est limité par l'emploi d'un agitateur magnétique sans moteur (Variomag, Bioblock, France). Elle est employée comme suit : 2 ml de la solution à mesurer puis 18 ml d'eau désionisée sont introduits dans la cellule par aspiration ; le pH est porté à un minimum de 11,9 par l'ajout de 3 gouttes de NaOH 10 N sous agitation (600 trs/min) ; après mesure, la solution s'écoule par gravité hors de la cellule qui est rincée au moins 2 fois par 18 ml d'eau désionisée laissée au contact de la membrane pendant 1 min sous agitation. Tous les produits chimiques utilisés sont de qualité analytique. Les réactifs étaient stockés à +4°C.

### Temps de réponse et linéarité

Deux solutions de chlorure d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) apportant respectivement 0,1 g/l et 0,5 g/l de  $\text{NH}_3$  ont été introduites dans la cellule et les potentiels de l'électrode ont été mesurés au bout de 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20 et 30 min. L'intervalle de linéarité de la réponse de l'électrode a été déterminé à l'aide de 5 gammes d'étalonnage indépendantes de 8 points chacune. Les concentrations de  $\text{NH}_3$  dans la cellule étaient de 0,05, 0,1, 0,5, 1, 10, 100, 500 et 1000 mg/l. Les solutions d'étalonnage ont été mesurées dans l'ordre croissant des concentrations pour éviter tout effet de mémoire.

En usage courant, un étalonnage est fait au moins une fois par jour d'utilisation et avant chaque lot de mesure, à l'aide de 2 solutions de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  contenant 50 et 500 mg/l de  $\text{NH}_3$ . Ces solutions sont préparées dans la salive artificielle infusée dans les fermenteurs et dont la composition est la suivante :  $\text{NaHCO}_3$ , 9,24 g/l ;

$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ , 7,12 g/l ;  $\text{NaCl}$ , 0,47 g/l ;  $\text{KCl}$ , 0,45 g/l ;  $\text{MgCl}_2 \cdot 4,5 \text{H}_2\text{O}$ , 0,087 g/l ;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 0,072 g/l. Les solutions d'étalonnage ont ainsi une force ionique proche de celle des échantillons de jus de rumen ou de fermenteur. L'étalonnage est rejeté si la pente s'éloigne de la valeur de référence 58 mV de plus de 4 mV.

### Amines volatiles

La présence d'amines primaires volatiles dans le jus de rumen a été examinée selon la procédure dérivée du test de Rimini (Vogels, 1966) par Manca *et al* (1989). L'éthanolamine a été

employée comme étalon. La présence d'amines secondaires volatiles a été examinée en adaptant le test de Simon (Vogels, 1966). L'étalonnage a été fait à l'aide de solutions de diéthylamine.

### Effet de mémoire

La mesure d'une faible concentration d'azote ammoniacal ( $\text{N-NH}_3$ ) est surestimée lorsqu'elle est consécutive à la mesure d'une forte concentration : l'électrode « garde en mémoire » la valeur précédente. Dans le cas du jus de rumen, il est inutile de considérer des concentrations de  $\text{N-NH}_3$  hors de l'intervalle [10, 1000 mg/l], ce qui correspond à une concentration dans la cellule variant de 1 à 100 mg/l  $\text{N-NH}_3$ . Nous avons tout d'abord étudié la cinétique de l'effet d'une solution de 100 mg/l  $\text{N-NH}_3$  dans la cellule sur les lectures consécutives d'une solution de 1 mg/l  $\text{N-NH}_3$  : après 2 lectures de la solution à 1 mg/l  $\text{N-NH}_3$ , 1 à 5 lectures de la solution à 100 mg/l  $\text{N-NH}_3$  ont été suivies de plusieurs lectures de la solution à 1 mg/l  $\text{N-NH}_3$ , jusqu'à ce que le potentiel de l'électrode reste constant d'une mesure à l'autre. Puis nous avons estimé l'amplitude de l'effet de mémoire en fonction de la concentration des solutions mesurées consécutivement : après 2 lectures d'une solution diluée (10 ou 1 mg/l  $\text{N-NH}_3$  dans la cellule), une lecture unique d'une solution concentrée (100, 50 ou 10 mg/l  $\text{N-NH}_3$  dans la cellule) a été suivie de plusieurs lectures de la solution diluée, jusqu'à ce que la réponse reste constante. Pour chaque couple de solutions, 3 séquences de mesures indépendantes ont été faites. Le domaine à explorer a été réduit à l'intervalle [10, 100 mg/l] pour la solution concentrée et [1, 50 mg/l] pour la solution diluée. Pour tenter d'établir un modèle empirique polynomial, linéaire par rapport aux coefficients, capable de prédire l'effet de mémoire, des mesures complémentaires ont été faites selon une procédure identique avec les couples de concentration (100 ; 25) (55 ; 25) et (50 ; 1), exprimées en mg/l  $\text{N-NH}_3$ . Les points expérimentaux utilisés sont présentés dans le tableau I.

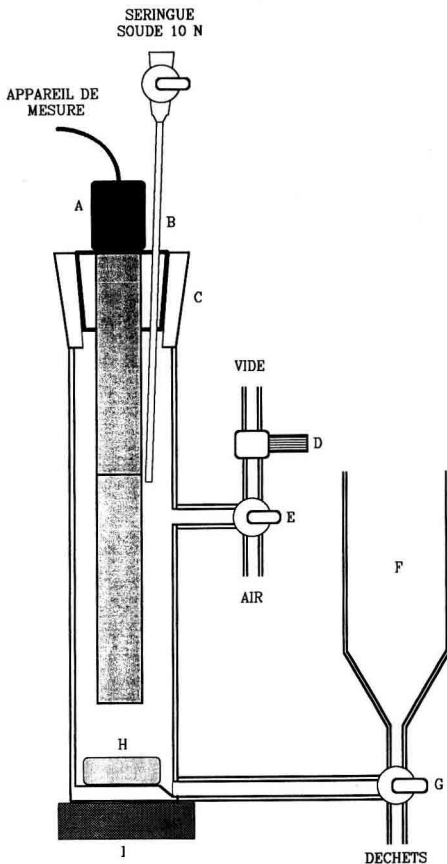


Fig 1. Cellule de mesure. A : électrode à ammoniac ; B : canule inox 20/10<sup>e</sup> ; C : rodage 24/20 ; D : vanne à réglage fin ; E : robinet 3 voies ; F : corps de seringue 20 ml ; G : robinet 3 voies ; H : barreau aimanté ; I : agitateur magnétique.

### Surcharge de $\text{NH}_4\text{Cl}$ dans du jus de rumen filtré

Dix échantillons contenant des surcharges variables de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  ont été préparés par le

**Tableau I.** Effet de mémoire, teneurs en azote ammoniacal de la solution concentrée (SC) et de la solution diluée (SD) et dérivées du potentiel mesuré sur SD ( $n = 3$ ).

SC (mg/l)	SD (mg/l)	Bloc	Dérive du potentiel * (en mV)	
			1 <sup>re</sup> mesure	2 <sup>e</sup> mesure
101	1,0	0	-8,3 (0,6)	-3,3 (0,6)
101	10	0	-2,0 (0,0)	-1,0 (0,0)
50	1,0	0	-5,6 (0,6)	-2,6 (0,6)
50	10,0	0	-1,0 (0,0)	0,0 (0,0)
100	25	1	-2,3 (0,6)	-2,3 (0,6)
55	25	1	-1,3 (1,5)	-0,7 (0,6)
50	1,0	1	-4,0 (0,0)	-3,0 (1,0)

\* (écart type,  $n = 3$ ).

mélange de 16 ml de jus de rumen filtré et de 4 ml de salive artificielle contenant de 0 à 1 g/l de  $N-NH_3$ . Chaque mélange a été divisé en 4 aliquots analysés indépendamment à l'aide de l'électrode selon la procédure décrite ci-dessus.

### Comparaison avec une méthode colorimétrique

Dix échantillons de jus de rumen filtré provenant de 10 moutons recevant différentes rations à base de foin ont été analysés. Leur teneur en azote ammoniacal ( $N-NH_3$ ) a été simultanément déterminée à l'aide de l'électrode selon la procédure décrite précédemment et par une méthode colorimétrique de référence (Davies et Taylor, 1965) sur un autoanalyseur Technicon (Technicon, Bran Lubbe, Les Clayes-sous-bois, France).

### Calculs

Les régressions linéaires ont été faites à l'aide d'une procédure SAS (SAS, Cary, USA, 1979). La régression multilinéaire nécessaire à la modélisation de l'effet de mémoire a été faite à l'aide du logiciel NEMROD (Mathieu et Phan-tan-luu (1982)).

## RÉSULTATS

### Temps de réponse et linéarité

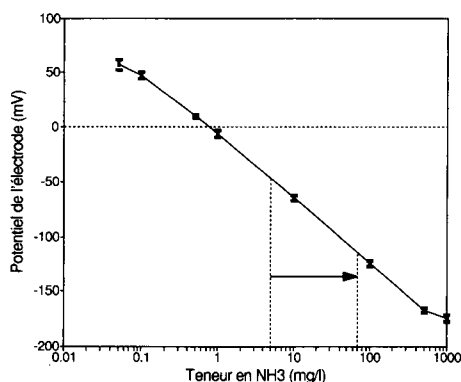
Les potentiels mesurés avec les 2 solutions ont atteint des valeurs stables au bout de 2 min. À une température variant de 24°C à 22,5°C les courbes d'étalonnage ont été linéaires entre 0,5 à 500 mg/l de  $NH_3$  dans la cellule (fig 2) et la pente a été égale à -59,12 mV (erreur standard = 0,37 ;  $R = 1,000$ ).

### Force ionique des échantillons

La principale source d'ions dans les échantillons prélevés en incubation *in vitro* est la salive artificielle utilisée pour réguler le pH et dont la composition est proche de celle de la salive animale. Sa force ionique est égale à 0,405 mol/l et dépasse la limite de 0,2 mol/l tolérée pour l'électrode. La dilution au dixième des échantillons permet de supprimer cet inconvénient, tout en conservant une excellente linéarité de la réponse dans l'intervalle de concentration qui nous intéresse (50 à 700 mg/l  $NH_3$ , fig 2). Les données sur la composition en minéraux du jus de rumen rassemblées par Durand et Kawashima (1980) montrent que la force ionique des échantillons prélevés sur animaux est liée à la nature de la ration mais qu'elle reste proche de celle de la salive artificielle, entre 0,23 et 0,49 mol/l. Les solutions d'étalonnage sont donc préparées dans la salive artificielle, quelle que soit l'origine de l'échantillon.

### Amines volatiles

Les tests de Rimini et de Simon n'ont pas mis en évidence la présence d'amines primaires et secondaires volatiles dans le jus



**Fig 2.** Relation entre teneur en ammoniac dans la cellule (échelle logarithmique) et potentiel de l'électrode (échelle linéaire). L'intervalle fléché indique le domaine des valeurs possibles dans le rumen ou en fermenteur.

de rumen à des concentrations égales ou supérieures à  $10^{-2}$  mol/l.

### Effet de mémoire

Après mesure de la solution 100 mg/l N-NH<sub>3</sub>, l'ampleur de l'erreur commise sur la première lecture de la solution 1 mg/l N-NH<sub>3</sub> a varié de +0,45 à +0,60 mg/l (fig 3). Elle a régulièrement baissé jusqu'à des valeurs de +0,10 à +0,27 mg/l à la cinquième mesure. Au-delà de 2, le nombre de mesures élevées n'a pas clairement influencé l'ampleur de la déviation. Le domaine dans lequel l'effet de mémoire ne peut être négligé correspond à la succession d'une mesure supérieure à 50 mg/l N-NH<sub>3</sub> et d'une mesure inférieure à 10 mg/l N-NH<sub>3</sub> (fig 4). L'erreur relative atteint 39% (écart type : 4,4%) lorsque l'écart entre concentrations est maximal. Le modèle empirique que nous avons utilisé est un modèle linéaire additif. Les données comportaient 6 points répétés 3 fois et 1 point répété 6 fois, le couple de concentrations (50,1) étant présent dans les 2 lots de mesure (tableau I). Il est apparu un effet de

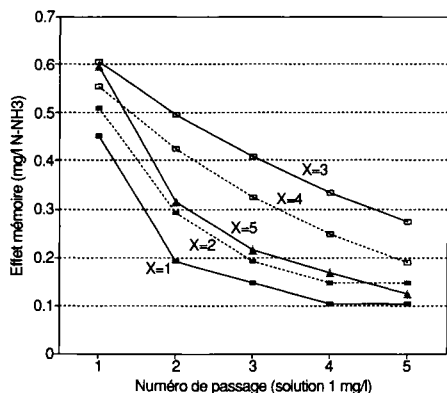
bloc entre les lots qui a été inclus dans le modèle comme troisième facteur. La mauvaise répétabilité des mesures et la présence de réponses nulles en certains points du domaine exploré auraient nécessité, d'une part, de rechercher la cause de cette variabilité ou de répéter un grand nombre de fois les mesures et, d'autre part, de changer les bornes du domaine à explorer, tout en choisissant des points expérimentaux permettant de calculer les paramètres d'éventuels termes quadratiques. Le caractère marginal de l'effet de mémoire dans nos conditions expérimentales n'a pas justifié ce supplément d'étude. L'équation du modèle calculé pour décrire la dérive à la première mesure Y est :  $Y = -3,16 - 1,07 \times SC + 2,66 \times SD - 0,57 \times \text{Bloc}$ , avec SC et SD teneurs en N-NH<sub>3</sub> (mg/l) dans la solution concentrée et la solution diluée et Bloc égal à 0 pour le premier lot et à 1 pour le deuxième lot (coefficient de corrélation multiple = 0,59; ddl = 17).

### Surcharges de NH<sub>4</sub>Cl dans du jus de rumen filtré

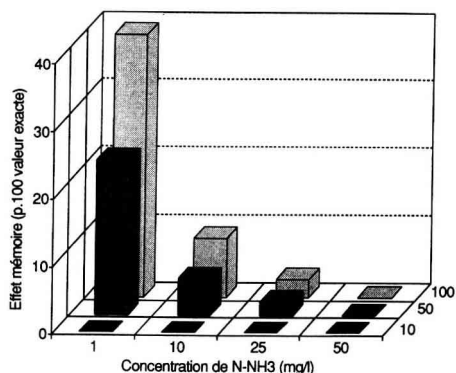
Les coefficients de variation des concentrations mesurées ont été compris entre 2,5 et 5,8% (tableau I). Les taux de récupération ont varié de 91 à 96%, à l'exception de la surcharge la plus faible, 25 mg/l N-NH<sub>3</sub> retrouvée seulement à 73%. Ces résultats peuvent être résumés par la fonction de régression linéaire de Y, la surcharge mesurée, en X, la surcharge théorique,  $Y = 0,962 X - 1,9$  ( $R = 0,992$ ;  $n = 8$ ), avec des erreurs standard de la pente et de l'ordonnée à l'origine respectivement égales à 0,014 et 1,6.

### Comparaison avec une méthode colorimétrique

Les 10 concentrations mesurées par colorimétrie ont été comprises entre 183 et 447



**Fig 3.** Effet de mémoire, influence du nombre de passages (X) d'une solution à 100 mg/l N-NH<sub>3</sub> sur les mesures consécutives d'une solution à 1 mg/l N-NH<sub>3</sub> (concentrations dans la cellule).



**Fig 4.** Effet de mémoire, influence des teneurs en N-NH<sub>3</sub> dans la cellule de 2 mesures consécutives (mg/l, première mesure : axe Y, deuxième mesure : axe X) sur l'erreur relative commise sur la deuxième mesure.

mg/l N-NH<sub>3</sub>. Les valeurs Y obtenues par la méthode de l'électrode à diffusion gazeuse leur sont reliées par la fonction de régression linéaire :  $Y = 1,009 X - 5,2$  ( $R = 0,998$ ,  $n = 10$ ). La pente et l'ordonnée à l'origine ne sont pas significativement différentes respectivement de 1 (erreur standard de la pente : 0,024) et de 0 (erreur standard de l'ordonnée : 8,7).

## DISCUSSION

Le fonctionnement de la cellule de mesure a été satisfaisant. Son étanchéité et l'absence de variation significative de la température sont prouvées par la stabilisation du potentiel en 2 min. La linéarité de la réponse sur un large intervalle de concentrations est en accord avec la bibliographie

**Tableau II.** Taux de récupération de 8 surcharges de chlorure d'ammonium dans du jus de rumen mesurés à l'aide de l'électrode ( $N = 4$ ).

Surcharge (mg/l N-NH <sub>3</sub> )	Concentration (mg/l N-NH <sub>3</sub> ± ET)	Récupération (% ± ET)
0	151,7 ± 5,0	
0	153,3 ± 7,9	
25	170,8 ± 7,3	73,1 ± 21,1
55	204,0 ± 10,2	93,7 ± 8,1
85	234,3 ± 13,7	96,2 ± 9,6
100	243,5 ± 8,3	91,0 ± 2,3
100	245,9 ± 8,2	93,4 ± 3,9
155	299,8 ± 16,3	95,1 ± 6,5
180	324,4 ± 17,7	95,5 ± 6,4
200	344,0 ± 13,4	95,8 ± 3,9

(LeDuy et Samson, 1982; Manca *et al*, 1989) et constitue un des avantages de ce type d'électrode. La pente que nous avons mesurée est très proche de la valeur théorique de  $-59,16 \text{ mV}$  à  $+25^\circ\text{C}$  pour un cation monovalent. Avec la procédure que nous avons choisie, l'intervalle couvert par les concentrations de NH<sub>3</sub> possibles dans le rumen est nettement à l'intérieur du domaine de linéarité de l'électrode. La mesure dure environ 10 min, rinçages compris. Lorsque le flux d'échantillons doit être plus rapide, il est possible de mesurer le potentiel avant l'état d'équilibre en modélisant le comportement cinétique de l'électrode (Pardue et McNulty, 1988). Lorsque la mesure est faite en continu sur quelques centaines de microlitres, un dispositif à semi-conducteur est préconisé par Hörsten *et al* (1988).

Les substances qui interfèrent avec la mesure sont peu nombreuses. Les anions ou les cations autres que les amines volatiles n'interfèrent pas car ils ne peuvent traverser la membrane hydrophobe (Banwart *et al*, 1972). Le dioxyde de carbone et le sulfure d'hydrogène, gaz dissous de caractère acide, n'interfèrent qu'à un pH inférieur à 12. Parmi les 35 substances testées par Banwart *et al* (1972) et comprenant des hexosamines, des bases puriques et pyrimidiques, des acides aminés et des amides, seules la méthylamine et l'éthylamine ont perturbé la mesure. La perturbation augmente plus en fonction de la basicité de l'amine aliphatique que de sa volatilité (Viejo et Vallon, 1989). Les tests de Rimini et de Simon, fondés sur l'apparition d'une coloration sur un filtre imbibé de réactif, ont une faible précision et une faible sensibilité. Cependant, l'absence d'interférence significative par la présence d'amines volatiles est confirmée par l'excellente corrélation linéaire entre mesures colorimétriques et potentiométriques, avec une pente égale à 1,01. En effet, l'analyse de jus de rumen avec des surcharges d'amines nous a montré que la méthode colorimétrique est beau-

coup moins sensible à leur présence. Pour les échantillons qui présenteraient une concentration en amines volatiles trop importante, des méthodes plus sélectives ont été développées en changeant la nature chimique de la membrane (Kitade *et al*, 1989) ou même en la remplaçant par une couche de bactéries nitrifiantes immobilisées dont on mesure l'activité respiratoire à l'aide d'une électrode à oxygène (Hikuma *et al*, 1980).

L'effet de mémoire représente une gêne lorsque 2 échantillons de concentrations de N-NH<sub>3</sub> respectivement supérieure à 500 mg/l et inférieure à 100 mg/l se suivent. Cette éventualité est rare et souvent prévisible. En conséquence, notre tentative pour modéliser correctement ce biais n'a pas été poursuivie parce que l'intérêt pratique de cette modélisation ne justifiait pas la résolution des questions de méthode auxquelles nous avons été confrontés. Ces questions ont été : i) la nécessité d'une précision de 0,1 mV dans les mesures de potentiel ; ii) l'apparition d'un effet de bloc entre les 2 séries de mesures, dont il faudrait rechercher la cause ; iii) la forme triangulaire du domaine d'intérêt, en dehors duquel la réponse est nulle et n'a donc pas de composante aléatoire. En pratique, l'apparition d'un effet de mémoire oblige à changer l'électrolyte de remplissage de la cellule et à réétalonner l'électrode. Nous avons atténué la dérive de 40% en rinçant l'électrode 4 fois pendant 30 sec avec de l'eau désionisée amenée à pH 3 par ajout d'HCl. Cependant, si ce biais est trop fréquent, il est nécessaire de modifier le module à membrane pour permettre un remplacement de l'électrolyte en continu (Guilbaut *et al*, 1985).

La reproductibilité de la mesure et les taux de récupération ont été semblables à ceux que rapportent Manca *et al* (1989). Le coefficient de variation de la mesure est en moyenne de 4,5% et il est nettement indépendant de la concentration. Il n'est apparu aucun biais systématique entre les mesures

obtenues par colorimétrie et celles obtenues à l'aide de l'électrode. La différence relative entre les valeurs d'un même échantillon a varié de -4,8 à 2,5% avec une moyenne de -1,1%. La corrélation linéaire entre les 2 lots est excellente.

En conclusion, la mesure de la concentration d'ammoniac dans le jus de rumen filtré et le contenu de fermenteur par une électrode à diffusion gazeuse selon la procédure que nous avons choisie est précise, rapide et peu coûteuse.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs souhaitent remercier Mme P Journaix pour les dosages colorimétriques et Mlle A Broudiscou pour ses conseils lors de l'étude de l'effet de mémoire.

## RÉFÉRENCES

- Banwart WL, Tabatabai MA, Bremner JM (1972) Determination of ammonium in soil extracts and water samples by an ammonia electrode. *Comm Soil Sci Plant Analysis* 3, 449-458
- Conway EJ (1957) *Microdiffusion analysis and volumetric error*. Crosby Lockwood Publ, London, Royaume-Uni
- Davies AW, Taylor K (1965) Application of the autoanalyser in a river authority laboratory. *Symposium Technicon* 294-300
- Directive CEE 71/393/CEE (1971) *Dosage des bases azotées volatiles*. JO CE 20 décembre 1971, no L 279
- Durand M, Kawashima R (1980) Influence of minerals in rumen microbial digestion. In: *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants* (Y Ruckebusch, P Thivend, eds) MTP Press Limited, Lancaster, Royaume-Uni, 375-408
- Guilbault GG, Czarnecki JP, Nabi Rahni MA (1985) Performance improvements of gas-diffusion ion-selective and enzyme electrodes. *Anal Chem* 57, 2110-2116
- Hikuma M, Kubo T, Yasuda T, Karube I, Suzuki S (1980) Ammonia electrode with immobilized nitrifying bacteria. *Anal Chem* 52, 1020-1024
- Hörsten EG, Nilsson L, Winqvist F, Elwing H, Lundström I (1988) Measurement of ammonium utilization by *Escherichia coli* under ammonium limitation by means of an ammonia-sensitive semiconductor device. *Appl Microbiol Biotechnol* 29, 269-274
- Ingold manuel d'instruction pour l'électrode à NH<sub>3</sub>*. Ingold Messtechnik AG, Urdorf, Suisse
- Kitade T, Kitamura K, Hozumi K (1989) Characteristics of ammonia electrode mounted with plasma-polymerized multi-layer membrane. *Bunseki Kagaku* 38, 10-15
- Le Duy A, Samson R (1982) Testing of an ammonia ion selective electrode for ammonia nitrogen measurement in the methanogenic sludge. *Biotechnol Lett* 4, 303-306
- Manca D, De La Noue J, Côté JE, Turcotte J (1989) Evaluation of a gas-phase selective electrode for the quantitation of ammonia in liquid piggery wastes. *Inter J Environ Anal Chem* 36, 55-68
- Mathieu D, Phan-tan-luu R (1982) Logiciel NEM-ROD. LPRAI, Université d'Aix-Marseille, Marseille, France
- Pardue HL, McNulty PJ (1988) Kinetic response of an ammonia-selective electrode evaluated for quantitation of ammonia. *Anal Chem* 60, 1351-1354
- SAS Institute (1979) *SAS Users guide*. SAS Institute Inc, Cary, NC, USA
- Sievers DM, Doyle K, Porter JH (1984) Ammonia measurement in high organic wastes. *Transactions of the ASAE* 27, 182-184
- Viejo V, Vallon JJ (1989) Sélectivité de l'électrode à ammoniac vis-à-vis d'amines volatiles. *Analytical Lett* 22, 25-41
- Vogels AI (1966) *Textbook of Practical Organic Chemistry*. Longmans, London, Royaume-Uni, 420-421