

ÉTUDE DE LA DÉGRADATION DU PHÉNOL LORS DE LA DIGESTION ANAÉROBIE : OPTIMISATION D'UNE MÉTHODE D'ANALYSE DU PHÉNOL PAR SPME-CG-SM ET MISE EN ÉVIDENCE DE SA MINÉRALISATION PAR UNE APPROCHE ISOTOPIQUE

Intissar Limam^{a, b}, Angéline Guenne^b, Mohamed Ridha Driss^{a*}, Laurent Mazeas^b

^a Unité de recherche Chimie analytique appliquée 05/UR/12-03, Faculté des Sciences de Bizerte, 7021 Jarzouna, Tunisie

^b Unité de recherche Hydrosystèmes et bioprocédés, CEMAGREF, Parc de Tourvoie, BP 44, 92163 ANTONY, France

(Reçu le 13 Octobre 2009, accepté le 22 Mars 2010)

RESUME: Au cours de ce travail nous avons optimisé une méthode de microextraction en phase solide (SPME) couplée à la chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (CG-SM) spécifique pour l'analyse du phénol. Les limites de détection et de quantification sont respectivement de 0,010 $\mu\text{g.L}^{-1}$ et de 0,034 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Cette méthode est appliquée à des lixiviats prélevés à partir de microcosmes de dégradation de déchets ménagers. Ces microcosmes ont été incubés en condition anaérobie à 35 °C (conditions mésophiles) et 55 °C (conditions thermophiles) sans agitation. Un suivi continu de la production du biogaz (CH_4 et CO_2), du COT et des acides gras volatils (AGV) est réalisé pendant 130 jours jusqu'à l'obtention des conditions de méthanogenèse stable. Ensuite, le phénol- $^{13}\text{C}_6$ est injecté dans les microcosmes et un suivi de sa dégradation aux deux températures 35 °C et 55 °C a été effectué. Cette étude a prouvé la minéralisation quasiment totale du phénol en CO_2 et CH_4 au bout de 50 jours et 40 jours respectivement à 35 °C et 55 °C. Aucune dégradation du phénol n'a été observée dans les témoins abiotiques.

Mots clés: Phénol; micro-extraction en phase solide; CG-SM; dérivation, dégradation anaérobie.

ABSTRACT: Throughout this work we optimized a specific method for the analysis of phenol by solid phase microextraction (SPME)-gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The detection and quantification limits are respectively 0,010 $\mu\text{g.L}^{-1}$ and 0,034 $\mu\text{g.L}^{-1}$. This method was applied to leachate taken from microcosms made up of household waste. These microcosms were anaerobically incubated at 35 °C (mesophilic conditions) and 55 °C (thermophilic conditions) without agitation. A continuous follow-up of the production of biogas (CH_4 and CO_2), TOC and volatile fatty acids (VFA) was carried out during 130 days until the establishment of stable methanogenesis. Then, $^{13}\text{C}_6$ -phenol is injected in microcosms and its degradation follow-up at the two temperatures 35 °C and 55 °C was carried out. This study proved the almost total mineralisation of phenol into CO_2 and CH_4 within 50 days and 40 days respectively at 35 °C and 55 °C. No degradation of the phenol was observed in the controls.

Key words: Phenol, solid phase micro-extraction; GC-MS; derivatization; anaerobic degradation.

INTRODUCTION

Le phénol est un xénobiotique, appartenant aux composés aromatiques, qui représentent la deuxième classe de composés organiques les plus abondants dans la nature [1]. C'est un produit majeur de la grande industrie, en servant de précurseur pour la fabrication d'une variété de résines (phénolique, époxy, polycarbonate et polyamide) [2]. Le phénol et ses dérivés sont généralement trouvés dans les rejets d'eaux industrielles provenant des industries de produits chimiques, pesticides, conversion du charbon, papiers, raffinage du pétrole etc.

Le phénol est également présent dans les déchets ménagers puisqu'il est retrouvé dans les lixiviats générés au cours de la dégradation des déchets dans les installations de stockage de déchets

* correspondant

non dangereux (ISDND) [3]. En raison de sa toxicité [4,5], il est donc important d'étudier le devenir du phénol lors de la digestion anaérobie afin de développer des procédés permettant de le dégrader au mieux afin qu'il ne se retrouve pas en quantité trop importante dans les digestats qui sont ensuite utilisés après compostage en tant qu'amendement organique. D'autre part le phénol peut inhiber certains microorganismes qui jouent un rôle important dans le processus de digestion anaérobie des déchets ménager [6-9].

Dans la présente étude, un suivi de la concentration du phénol au cours de son incubation en anaérobiose dans des microcosmes de laboratoire contenant des déchets ménagers, dans les conditions mésophiles (35°C) et thermophiles (55°C) a été réalisé à l'aide d'une méthode de détermination par microextraction en phase solide SPME couplée à la chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse CG-SM, automatique et rapide développée dans le cadre de ce travail. D'autre part, la minéralisation du phénol (transformation en CO₂ et CH₄) a été prouvée grâce à une approche isotopique. En effet, en introduisant le phénol sous une forme enrichie en ¹³C il est alors possible de prouver spécifiquement sa minéralisation au sein d'un milieu complexe en suivant la composition isotopique du CO₂ et du CH₄ dans le biogaz formé.

MATERIELS ET METHODES

1. Solvants et réactifs

Les différents produits utilisés dans cette étude sont : le méthanol, l'acétone, l'anhydride acétique, le bicarbonate de potassium et le chlorure de sodium. Tous ces produits fournis par Supelco sont de qualité pour analyse (PA). Le phénol-¹³C₆ (99%) est obtenu chez Cambridge isotope laboratories, Inc. L'eau ultra-pure utilisée est obtenue à partir du système de production d'eau ultra-pure milli-Q.

2. Préparation des microcosmes

2.1. Préparation de l'inoculum

L'inoculum est la source des microorganismes susceptibles de dégrader les déchets. Il est préparé par centrifugation de 200 mL de lixiviats provenant d'une ISDND (Vert la grand, Paris). La centrifugation du lixiviat est effectuée pendant 10 min à 8500 rpm et à une température de 4 °C (Beckman Coulter Allegra™ X-22R, France). Quatre inocula sont ainsi préparés.

2.2. Incubation des microcosmes

Afin d'étudier les processus de biodégradation anaérobie du phénol dans les ISDND, des incubations en microcosmes ont été mises en place. Le microcosme est réalisé dans une bouteille (330 mL) en verre borosilicaté contenant 210 mL d'une solution tampon NaHCO₃ (0,14 M) à pH = 8,3 et l'inoculum est mélangé avec 10 g de déchet reconstitué dans les proportions indiquées dans le Tableau 1 (Ces proportions sont issues de la méthode de caractérisation des ordures ménagères MODECOM de l'agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie, France)

Afin de travailler dans des conditions d'anaérobiose stricte, les bouteilles sont fermées par des septums étanches et les gaz présents dans le ciel gazeux des bouteilles sont évacués à l'aide d'une pompe à vide. Ensuite, une injection d'azote pur est effectuée. Au total, 4 incubations ont été menées (2 à 35 °C et 2 à 55°C).

Durant 130 jours, un suivi de la production du biogaz, du pH, du carbone organique total (COT) et des acides gras volatils (AGV) a été réalisé. Au terme de cette période, la méthanogénèse est stabilisée (plus de biogaz produit), nous avons alors procédé à l'injection de 1,5 mg de phénol-¹³C₆ dissout dans 15 mL d'eau dans chaque bouteille. D'autre part, pour prendre en considération les processus abiotiques et être certain que la dégradation du phénol-¹³C₆ est due à des phénomènes biologiques, nous avons utilisé à chaque température, à partir d'une des deux bouteilles un témoin abiotique, dans lequel toute activité microbienne a été éliminée par l'ajout de HgCl₂ (inhibiteur bactérien) à une concentration de 1,5 g.L⁻¹ [10].

Tableau 1: Composition des fractions de déchets dans les incubations

Catégories	% masse humide déchet
Putrescibles	28,6
Papiers	16,1
Cartons	9,3
Emballage complexes	1,4
Textiles	2,6
Textiles sanitaires	3,1
Plastiques	11,1
Combustibles non classés	3,3
Verre	13,1
Métaux	4,1
Incombustibles non classés	6,8
Déchets spéciaux	0,5

3. Analyse du biogaz

La composition du biogaz est déterminée à l'aide d'un micro-chromatographe en phase gazeuse (Varian CP4900). L'analyse se déroule automatiquement et successivement pour les quatre bouteilles grâce à un système d'injection multivoies. Chaque analyse est réalisée trois fois. Le chromatographe est équipé de quatre voies analytiques indépendantes composées chacune d'un micro-injecteur, d'un four, d'une colonne et d'un nano-détecteur à conductivité thermique. Deux voies seulement sont utilisées: la première contient la colonne CP-PoraPLOT Q-HT (10 m x 0,53 mm) pour l'analyse du CO₂, N₂O et H₂S, la seconde contient la colonne CP-Molsieve 5A (10 m x 0,53 mm) pour l'analyse du CH₄ et N₂. Les deux colonnes sont fournies par Varian. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium. Les conditions chromatographiques sont présentées dans le tableau 2.

Tableau 2 : Les conditions d'analyse des biogaz par micro-chromatographie gazeuse

Colonne	Gaz détecté	Température (°C)	
		Colonne	Injecteur
CP-PoraPLOT Q-HT	CO ₂ , N ₂ O, H ₂ S	30	50
CP-Molsieve 5A	CH ₄ , N ₂	55	50

4. Analyse du lixiviat

Les échantillons de lixiviat sont prélevés et centrifugés pendant 10 min à 13400 t.min⁻¹. Les analyses du COT et des AGV sont effectuées sur le surnageant. Toutes les concentrations du carbone organique sont déterminées à l'aide d'un analyseur Bioritech 700 (Bioritech). Les concentrations de l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide butyrique dans les lixiviats ont été analysés à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse Thermo Quest-Trace GC 2000 (Thermo Fisher, France), équipé d'un détecteur à ionisation de flamme (FID) maintenu à une température de 300 °C et d'une colonne DB-WAXETR, 30 m x 0,53 mm, épaisseur du film 1 µm, fournie par J&W Scientific. Le gaz vecteur est l'hélium dont le débit a été fixé à 4 mL.min⁻¹. La température de l'injecteur est fixée à 230 °C et l'injection se fait avec division (20 mL.min⁻¹). La température du four est programmée comme suit : la température initiale est 100 °C pendant 0,5 min, puis une montée en température de 25 °C.min⁻¹ jusqu'à une température finale de 210 °C, maintenue pendant 5 min [11].

5. Analyse du phénol-¹³C₆

Le phénol est analysé par SPME en espace de tête couplée à la CG-SM. Le chromatographe en phase gazeuse utilisé est un Trace Ultra couplé à un spectromètre de masse quadripolaire DSQ (Thermo Fisher, France). Le système est équipé d'un passeur automatique d'échantillon (CTC Analytics, Switzerland) permettant d'automatiser la micro extraction en phase solide (SPME). L'injection se fait en mode sans division, pendant 5 min. La température de l'injecteur est maintenue à 250 °C et les températures de la ligne de transfert et de la source d'ions sont fixées à 280 °C. Le gaz vecteur utilisé est l'hélium dont le débit a été fixé à 1,2 mL.min⁻¹. Une colonne capillaire Zebron 5MS provenant de Phenomenex (5% phenyl-methyl polysiloxane, 60 m x 0,25 mm, épaisseur de film: 0,25 µm) a été utilisée. L'énergie d'ionisation en impact électronique est de 70 eV. L'ion moléculaire à m/z = 100 a été utilisé pour la quantification du phénol-¹³C₆. La température du four est programmée comme suit : la température initiale est 40 °C pendant 5 min, puis deux montées successives en température de 40 à 120 °C à 20 °C.min⁻¹ et de 120 à 280 °C à 35 °C.min⁻¹. Enfin, la température du four est maintenue à 280 °C pendant 2 min. Le système d'acquisition de données est le logiciel Xcalibur de Thermo Fisher.

Les trois fibres SPME testées (la polydiméthylsiloxane d'épaisseur 100 µm (PDMS), la polydiméthylsiloxane-divinylbenzene d'épaisseur 65 µm (PDMS-DVB) et la polyacrylate d'épaisseur 85 µm (PA)) sont fournies par Supelco. Le conditionnement des fibres est effectué dans l'injecteur dans les conditions recommandées par le fabricant.

6. Analyse du ¹³CH₄ et de ¹³CO₂

6.1 Appareillage

Les analyses ont été effectuées en utilisant un GC Trace Ultra (Thermo Electron Corporation, Etats-Unis) couplé à un spectromètre de masse isotopique par l'intermédiaire de l'interface de combustion Finnigan GC combustion III (Thermo Electron Corporation, Etats-Unis).

6.2 Principe

Le couplage de la chromatographie gazeuse et de la spectrométrie de masse [12, 13] permet de mesurer la composition isotopique moléculaire des composés au sein d'un mélange. En effet, après avoir été séparé par chromatographie en phase gazeuse, chaque composé est converti en dioxyde de carbone, en oxyde d'azote et en eau au niveau d'un four capillaire de combustion constitué d'un tube en quartz rempli d'oxyde de cuivre porté à 940 °C. Les oxydes d'azote sont réduits en N₂ par passage à travers un four capillaire rempli de cuivre porté à 600 °C. L'eau est ensuite éliminée grâce à une membrane hygroscopique. Le CO₂ résultant de la combustion de chaque composé ainsi purifié est introduit dans la source du spectromètre de masse isotopique où il est ionisé par impact électronique. Les ions CO₂⁺ obtenus sont triés suivant leur rapport masse sur charge (m/z). Les trois faisceaux ioniques, correspondant aux différents isotopomères du CO₂ (m/z = 44, 45, 46) sont détectés simultanément sur trois collecteurs distincts (3 cages de Faraday). La mesure de l'intensité du signal des masses 44, 45, et 46, comparée à celle obtenue pour du CO₂ de référence introduit en début et en fin d'analyse, permet le calcul du rapport ¹³C/¹²C de chaque composé présent dans le mélange.

6.3 Application de la méthode

Cette technique permet tout d'abord de mesurer les rapports ¹³C/¹²C de composés individuels présents dans des échantillons complexes (pétrole, échantillons biologiques et environnementaux). De plus, il est possible de déterminer la composition isotopique de composés présents à l'état de traces (=10 nmoles de carbones). Enfin, la précision de la mesure isotopique, de l'ordre du millième, permet non seulement des études de traçage à l'aide de molécules artificiellement enrichies en carbone 13, mais également la mesure des faibles variations du rapport ¹³C/¹²C observées au niveau des substances naturelles.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Optimisation d'une méthode d'analyse du phénol par microextraction en phase solide

Afin de mettre au point une méthode spécifique et suffisamment sensible pour l'analyse du phénol, nous avons adapté une méthode multicomposés employant la microextraction en phase solide en espace de tête (HS pour Head Space) couplée à la chromatographie en phase gazeuse avec une détection par spectrométrie de masse (HS-SPME-GC-MS) récemment développée [14]. Ce

protocole permet l'analyse simultanée de l'ensemble des composés phénoliques (phénol, méthylphénols, chlorophénols et bisphénol A). Brièvement, dans un flacon de capacité 20 mL en verre à fermeture avec un bouchon en PTFE, 5 mL de l'échantillon aqueux, 200 mg KHCO_3 , du NaCl à une proportion de 40% (p/v) et 30 μL d'anhydride acétique sont introduits. Avant l'étape d'extraction un temps de 5 min est nécessaire pour accomplir la réaction de dérivation (acétylation) à une température de 80 °C. Ensuite l'extraction en espace de tête est réalisée à l'aide d'une fibre SPME de type PDMS et d'épaisseur 100 μm , avec une vitesse d'agitation de 500 $\text{t}\cdot\text{min}^{-1}$ et à une température de 80 °C.

Dans le cas où nous avons besoin d'une méthode spécifique pour l'analyse d'un seul composé ou d'un sous ensemble de ces composés phénoliques, ces conditions expérimentales peuvent être modifiées afin d'abaisser la limite de détection de la méthode. Il est notamment possible de modifier deux facteurs très importants régissant l'extraction: le type du revêtement de la fibre et la température d'extraction.

Dans le cas du phénol la nature de la fibre a un effet particulièrement important sur le rendement d'extraction comme l'illustre la figure 1.a. La fibre PDMS/DVB permet d'obtenir un rendement d'extraction nettement supérieur à ceux observés avec les fibres PDMS et PA. La température d'extraction a également un effet non négligeable (Figure 1.b). Un meilleur rendement d'extraction du phénol est obtenu pour une température de 40°C.

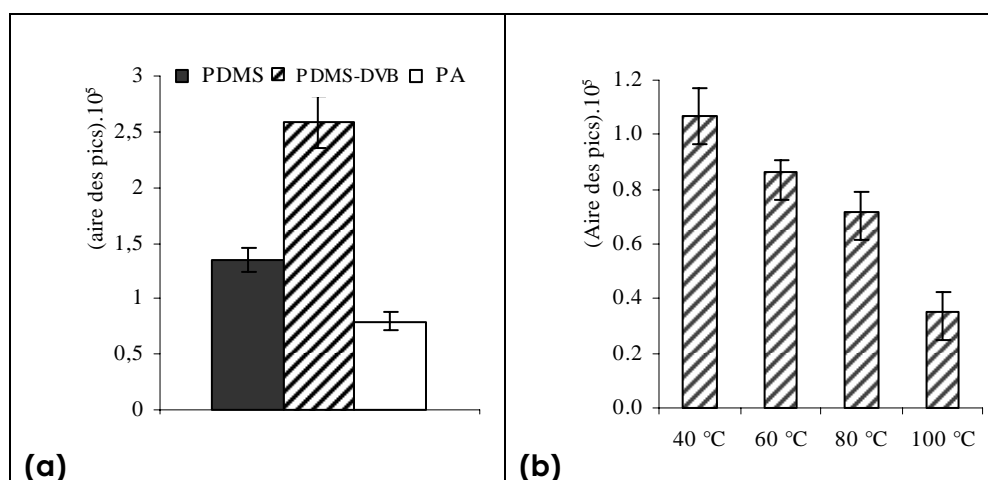


Figure 1. Efficacité de l'extraction du phénol en fonction de : (a) la nature de la phase d'extraction, (b) la température d'extraction

Afin de développer un protocole spécifique pour le phénol nous avons ainsi opté pour la fibre PDMS-DVB et une température d'extraction de 40°C (les autres paramètres restant identiques à ceux utilisés dans la méthode multicomposés décrite précédemment) [14].

2. Validation analytique de la méthode

La validation de ce protocole, optimisé pour l'analyse du phénol, a été réalisée sur des échantillons d'eau milli-Q dopés par le phénol à différentes concentrations. La linéarité est évaluée par la courbe de calibration donnant les aires des pics en fonction des concentrations. Cette courbe est tracée sur une gamme de concentrations allant de 0,1 à 20 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Le coefficient de détermination R^2 de la courbe est acceptable. Il est de 0,9950.

La limite de détection (LD) : 0,010 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ et la limite de quantification (LQ) : 0,034 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, ont été calculées comme le signal équivalant à respectivement 3 fois et 10 fois le bruit de fond chromatographique en conditions de travail sur matrice réelle.

La répétabilité de la méthode a été déterminée par le calcul du pourcentage du coefficient de variation standard (%CV) pour 3 analyses successives, pour une concentration de phénol de $2 \mu\text{g.L}^{-1}$. La valeur calculée est de 11,6% ce qui prouve que notre méthode est bien répétable.

3. Etude de la dégradation du phénol lors de la digestion anaérobie des déchets ménagers.

3.1. Préincubation avant injection du phénol- $^{13}\text{C}_6$

Les analyses du biogaz (Figure 2), du pH (Figure 3), du COT et des AGV (Figure 4) réalisées durant la phase de préincubation ont permis d'identifier trois grandes phases de la dégradation anaérobie des déchets: hydrolyse-acidogénèse, acétogénèse et méthanogénèse. Lors de la première phase, les composés biodégradables des déchets sont hydrolysés et transformés en acides gras. En effet, deux étapes de fermentation (hydrolyse et acidogénèse) se mettent en place très rapidement dans le microcosme. Nous pouvons distinguer la première phase du jour 0 au jour 9, au cours de laquelle nous observons une forte baisse de pH (Figure 3) et une forte production de CO_2 (Figure 2). Ces évolutions sont dues à la solubilisation de la matière organique contenue dans les déchets par les bactéries hydrolytiques, qui engendrent l'augmentation du carbone organique total (Figure 4). Le COT étant majoritairement composé d'AGV, cette accumulation entraîne donc une acidification du pH. Au cours de l'acidogénèse, les dégagements gazeux sont principalement composés de CO_2 . Puis au cours de l'acétogénèse, (du jour 9 au jour 22) les AGV sont transformés en acétate. Cette phase se caractérise par une stabilité du pH. A la fin de l'acétogénèse, la méthanogénèse débute pour former du méthane et du dioxyde de carbone. Nous remarquons une remontée du pH, due à la dégradation des AGV.

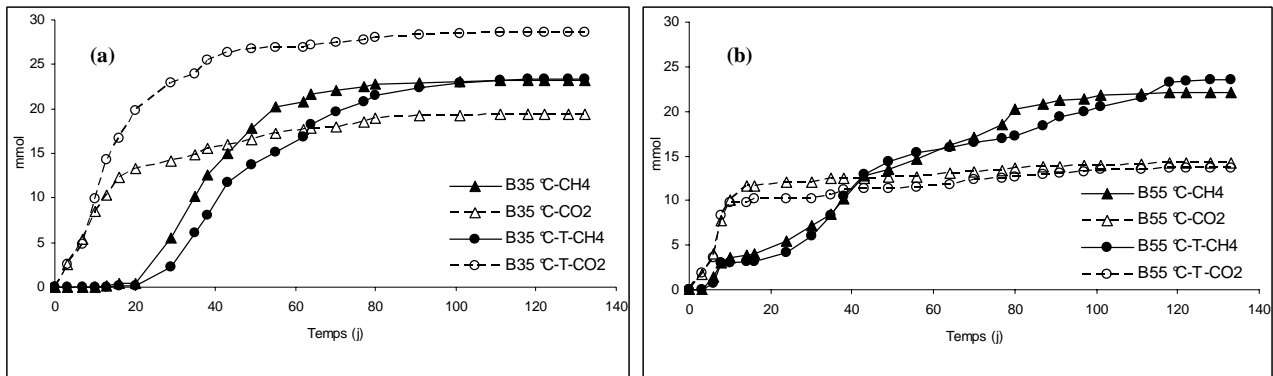


Figure 2. Production cumulée de biogaz dans les microcosmes: (a) 35 °C, (b) 55 °C.

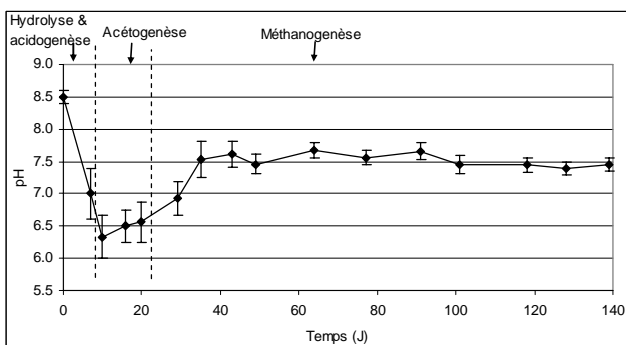


Figure 3. Evolution du pH dans les microcosmes

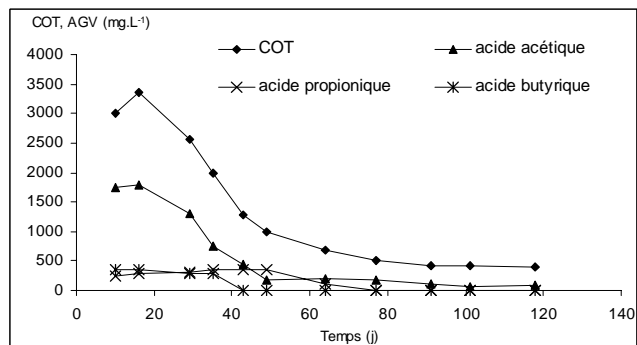


Figure 4. Evolution type du COT et de la concentration des AGV dans les incubations

Pour les différents microcosmes, après une durée de 130 jours nous atteignons un palier (Figure 2) où il n'y a plus de production de biogaz : c'est la phase stable de méthanogenèse. Et par suite l'ajout du phénol- $^{13}\text{C}_6$ peut être effectué sans avoir une contribution du CO_2 et du CH_4 provenant des déchets (non marqué en ^{13}C). Le pourcentage du $^{13}\text{CH}_4$ et du $^{13}\text{CO}_2$ sera déterminé ensuite, par les analyses isotopiques.

3.2. Suivi de la dégradation du phénol- $^{13}\text{C}_6$

3.2.1. Suivi quantitatif du phénol

Afin d'étudier la cinétique de dégradation du phénol au cours des incubations, des analyses quantitatives du phénol- $^{13}\text{C}_6$ ont été effectuées durant 100 jours (Figures 5 et 6), selon le protocole analytique optimisé (section 3.1). Dans les deux températures 35 °C et 55 °C, la diminution de la concentration du phénol- $^{13}\text{C}_6$ dans les incubations actives est immédiate dès son introduction. En effet, les courbes de variation de la concentration du phénol- $^{13}\text{C}_6$ subissent une diminution à 35 °C et à 55 °C respectivement, entre le 8^{ème} et le 42^{ème} jour (Figure 5.a) et entre le 12^{ème} et le 52^{ème} jour (Figure 6.a).

Il est à noter que pour les deux températures, la concentration du phénol- $^{13}\text{C}_6$ reste constante dans les incubations témoins (Figures 5.b et 6.b), prouvant ainsi que la dégradation du phénol- $^{13}\text{C}_6$ dans les incubations actives est due à des processus biotiques.

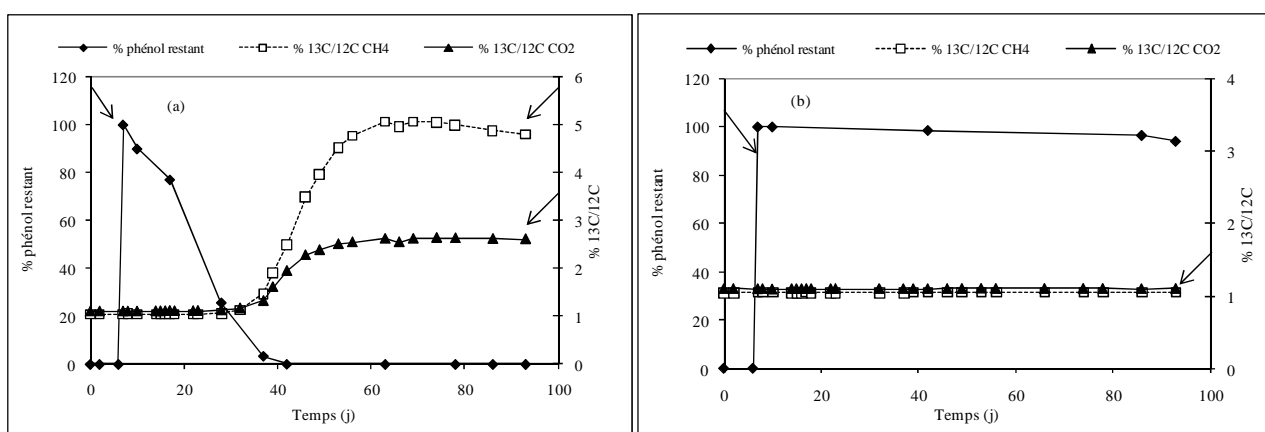


Figure 5. Suivi quantitatif et isotopique de la dégradation du phénol à 35 °C dans les incubations : (a) incubation active, (b) incubation Témoin

3.2.2. Suivi isotopique: Etude de la minéralisation du phénol

Le fait que le phénol ne soit plus détecté dans les incubations ne signifie pas nécessairement que ce dernier ait été totalement minéralisé (transformé en CO_2 et CH_4) et qu'aucun effet toxique ne persiste. En effet, certains produits de dégradation du composé peuvent persister si la voie métabolique ne conduit pas à la minéralisation totale du composé. Certains produits de dégradation pouvant s'avérer être plus toxique que le polluant initial il est important de prouver la minéralisation du composé avant de pouvoir conclure quant à l'efficacité d'un procédé de dépollution.

L'objectif était ainsi de prouver la minéralisation du phénol- $^{13}\text{C}_6$ lors de la digestion anaérobie des déchets grâce à une démarche originale reposant sur la mesure du taux d'enrichissement en carbone 13 du méthane et dioxyde de carbone dans le ciel gazeux des microcosmes.

Le suivi de la composition isotopique du méthane et du dioxyde de carbone (Figures 5.a et 6.a) montre clairement que la dégradation du phénol- $^{13}\text{C}_6$ dans les incubations actives s'accompagne d'une augmentation de la composition isotopique du méthane (% $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ CH_4) et du dioxyde de carbone (% $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ CO_2) traduisant ainsi la minéralisation du phénol- $^{13}\text{C}_6$. En effet, ce dernier, est entièrement minéralisé sous forme de (CO_2 et CH_4) dans les conditions mésophiles et thermophiles, respectivement au bout de 50 jours (Figure 5.a) et 40 jours (Figure 6.a), selon des processus biotiques.

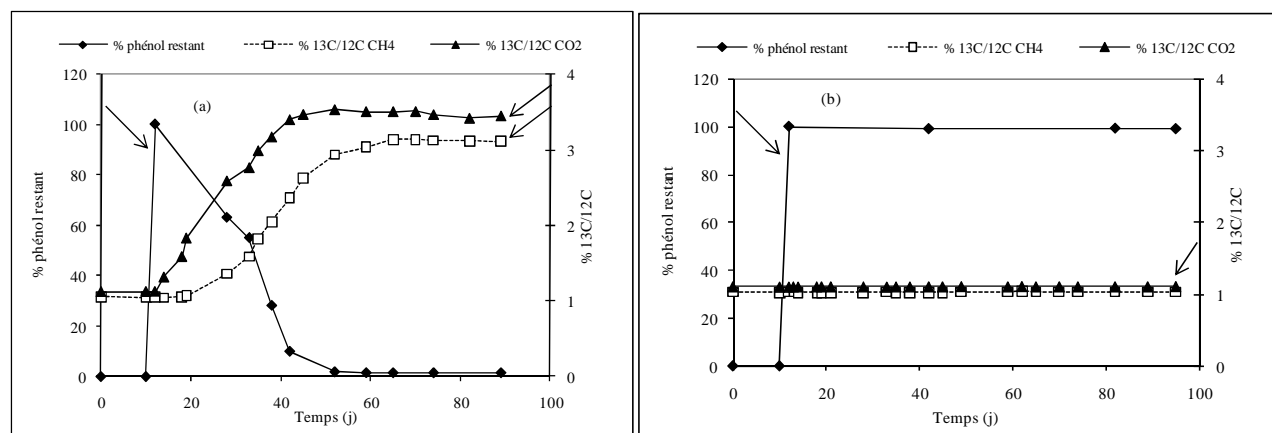


Figure 6. Suivi quantitatif et isotopique de la dégradation du phénol à 55 °C dans les incubations :
 (a) incubation active, (b) incubation témoin.

A ce sujet il est intéressant d'observer qu'à 55 °C une minéralisation rapide (dès le deuxième jour) du phénol (production du CO₂ et du CH₄ parfaitement corrélée avec la disparition du phénol) se produit tout au long de sa dégradation alors qu'à 35 °C un temps de 25 jours s'écoule entre le début de la dégradation du phénol et l'apparition du CO₂ et du CH₄ marqué en ¹³C.

CONCLUSION

Ce travail a permis d'optimiser un protocole de quantification du phénol par micro extraction en phase solide couplée à une analyse par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (SPME-CG-SM). Ce nouveau protocole présente une haute sensibilité puisque les limites de détection et de quantification déterminées sont respectivement de 10 ng.L⁻¹ et de 34 ng.L⁻¹. De plus, cette méthode d'analyse du phénol est automatisable et n'utilise pas de solvants organiques.

Lors des expériences en microcosme, grâce à une approche isotopique, la minéralisation du phénol a été mise en évidence à 35 °C et à 55 °C. Cependant, à 35°C un retard de 25 jours est observé entre le début de la dégradation du phénol et l'apparition du CO₂ et du CH₄ marqué en ¹³C.

Enfin, la digestion anaérobie en conditions mésophile et thermophile semble donc être un procédé efficace de traitement du phénol.

REFERENCES

- [1] M. Boll, G. Fuchs, J. Heider, *Curr. Opi. Chem. Biol.*, **2002**, *6*, 604.
- [2] S. E. Agarry, A. O. Durojaiye, B. O. Solomon, *Int. J. Environ. Pollut.*, **2008**, *32*, 12.
- [3] A. Baun, A. Ledin, L. A. Reitzel, P. L. Bjerg, T. H. Christensen, *Water Res.*, **2004**, *38*, 3845.
- [4] T. P. Kauppinen, T. J. Partanen, S. G. Hernberg, J. I. Nickels, R. A. Luukkonen, T. R. Hakulinen, E. I. Pukkala, *Brit. J. Ind. Med.* **1993**, *50*, 143.
- [5] D. A. Eastmond, M. T. Smith, L. O. Ruzo, D. Ross, *Mol. Pharmacol.*, **1986**, *30*, 674.
- [6] Y. T. Wang, H. D. Gabbard, P. C. Pai, *J. Environ. Eng.*, **1991**, *117*, 487.
- [7] H. H. P. Fang, O. C. Chan, *Water Res.*, **1997**, *31*, 2229.
- [8] B. I. Escher, M. Snozzi, R. P. Schwarzenbach, *Environ. Sci. Technol.*, **1996**, *30*, 3071.
- [9] R. Sierra-Alvarez, G. Lettinga, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **1991**, *34*, 544.
- [10] L. Tuominen, T. Kairesalo, H. Hartikainen, *Appl. Environ. Microbiol.*, **1994**, *60*, 3454.
- [11] V. Vigneron, T. Bouchez, C. Bureau, N. Mailly, L. Mazeas, C. Duquennoi, J. M. Audic, I. Hébé, N. Bernet, *Water Sci. Technol.*, **2005**, *52*, 289.
- [12] M. Sano, Y. Yotsui, H. Abe, S. Sasaki, *Biomed. Mass. Spectrom.*, **1976**, *3*, 1.
- [13] D. E. Matthews, J. M. Hayes, *Anal. Chem.*, **1978**, *50*, 1465.
- [14] I. Limam, A. Guenne, M. R. Driss, L. Mazeas, *Inter. J. Environ. Anal. Chem.*, **2010**, *90*, 228.