



БИОЛОГИЯ

УДК 579.222.2:574.24

СКРИНИНГ МИКРООРГАНИЗМОВ-ДЕСТРУКТОРОВ КОМПОНЕНТОВ БУРОВЫХ РАСТВОРОВ

А. Ю. Беляков, Е. В. Плешакова

Саратовский государственный университет
E-mail: beland89@mail.ru

Показано, что буровые шламы представляют собой источник специализированных микроорганизмов, способных к утилизации различных компонентов, входящих в состав буровых растворов, включая нефтяные углеводороды, крахмал. Из двух образцов буровых шламов методами прямого высева и накопительного культивирования выделено 8 микробных штаммов с широким субстратным спектром в отношении нефтяных углеводородов различной степени токсичности, что свидетельствует о перспективности использования таких микроорганизмов в биотехнологиях обезвреживания буровых отходов.

Ключевые слова: микроорганизмы-деструкторы, буровые растворы на углеводородной и водной основе, буровой шлам, поверхностно-активные вещества, крахмал, карбоксиметилцеллюлоза.

Screening of Microorganisms-destructors Components of Drilling Fluids

A.Yu. Belyakov, E. V. Pleshakova

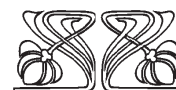
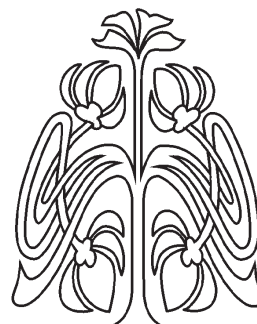
It is shown that the drill cuttings are a source of specialized microorganisms capable of recycling various components that make up the drilling fluids, including oil hydrocarbons and starch. 8 microbial strains with a broad substrate spectrum in of petroleum hydrocarbons of varying degrees of toxicity were isolated from two samples of drill cuttings by direct seeding and cultivation of storage, indicating the perspectivity of using such microorganisms in biotechnology disposal of drilling waste.

Key words: microorganisms-destructors, oil-base and water-base drilling fluids, cuttings, surfactants, starch, carboxymethyl cellulose.

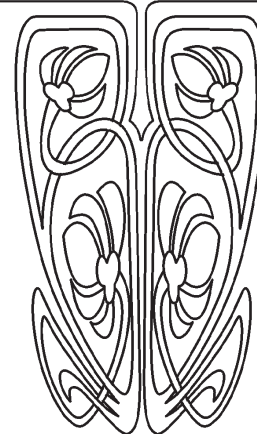
Бурение любой нефтяной и газовой скважины сопровождается применением буровых растворов, состоящих из материалов и химических реагентов различной степени экологической опасности [1].

Для объектов природной среды большую опасность представляют и производственно-технологические отходы бурения, в частности, буровые шламы, токсическое действие которых в случае использования растворов на углеводородной основе (РУО) становится еще более сильным, чем при использовании буровых растворов на водной основе [2].

Буровые шламы представляют собой продукт, состоящий из твердых и жидких компонентов, поступление которых в окружающую среду приводит к ее загрязнению. Образующийся на забое выбуренный шлам взаимодействует с буровым раствором. В результате этого частицы горных пород адсорбируют на поверхности различные компоненты бурового раствора и в таком виде остаются длительное время на буровой площадке, в частности, в шламовых амбарах [3].



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





Анализ литературных источников свидетельствует о том, что существующие технологии обезвреживания буровых отходов являются дорогостоящими, энерго- и трудозатратными, не способствуют образованию экологически безопасных соединений [4]. В связи с этим актуальным является возможность использования микроорганизмов-деструкторов, способных расти и проявлять активную биохимическую деятельность в среде с высоким содержанием углеводов, поверхностно-активных веществ (ПАВ) и полимерных добавок, что в дальнейшем приведет к биодеструкции этих веществ.

Известно, что при разработке способов микробной утилизации различных поллютантов, в том числе компонентов, входящих в состав буровых растворов и шламов, целесообразным является скрининг микроорганизмов-деструкторов в загрязненных местообитаниях, т.к. в таких условиях под воздействием селективного давления формируются микробные штаммы с высоким деструктивным потенциалом [5–7]. Буровые шламы, которые в течение длительного времени находятся на специализированных площадках нефтяных месторождений, также могут служить селективными агентами для образования углеводородоокисляющих микроорганизмов (УОМ), а также бактерий-деструкторов различных компонентов буровых растворов [8, 9].

Цель настоящего исследования состояла в изучении микробных сообществ двух образцов буровых шламов для выявления микроорганизмов-деструкторов химических реагентов, входящих в состав буровых растворов.

Материалы и методы

Объектами исследований являлись микробные сообщества двух образцов буровых шламов с высоким значением рН ($pH = 9$) и степенью минерализации 15%. Данные образцы были отобраны из нефтяных скважин Восточной Сибири, особенностью которых является холодная геология продуктивных пластов (температура коллектора составляет 12–15°C), аномально низкие пластовые давления и высокое содержание соли NaCl (до 5%).

Буровые шламы были отобраны в процессе строительства скважины с первой ступени очистки бурового раствора. Образцы состояли из выбуренной породы, пропитанной раствором на основе дизельного топлива – (БШ 1), и соленасыщенным раствором на водной основе – (БШ 2). Образец БШ 1 был отобран с глубины 1611 м, БШ 2 – с глубины 1508 м. В первом

образце выбуренная порода была представлена преимущественно песчаником, во втором – доломитом. Общее содержание нефтяных углеводов в образцах определяли ретортным анализом, путем перегонки шлама при $t = 420$ °C и последующем сборе в мерный цилиндр выпаренного конденсата [10]. Оно составило: в БШ 1 – 6, БШ 2 – 1,2%. Содержание углеводов в БШ 1 было обусловлено, главным образом, потерями бурового раствора со шламом, в частности, углеводородной дисперсионной среды, и попаданием углеводов из продуктивного пласта; в образце БШ 2 наличие углеводов обусловлено потерями со шламом смазывающих агентов, добавляемых в буровой раствор, а также попаданием из продуктивного пласта. Перечисленные выше особенности исследуемых буровых шламов свидетельствовали об уникальности данных экологических ниш для микробиоты и возможности выделения микроорганизмов с оригинальными эколого-функциональными характеристиками, связанными, например, со способностью использовать в качестве единственного источника углерода и энергии углеводородные субстраты и другие химические реагенты.

Для анализа культивируемых аэробных бактерий, входящих в состав микробных сообществ буровых шламов, и обнаружения среди них микроорганизмов-деструкторов различных ксенобиотиков использовали технику прямого посева и метод накопительного культивирования [11].

Накопительное культивирование осуществляли в 250-миллиметровых колбах в 2 повторностях: в 100 мл минеральной среды М9 вносили 1 г бурового шлама [11]. В качестве единственного источника углерода и энергии добавляли предварительно автоклавированные при 1 атм. буровые растворы в концентрации 1% по весу: 1) раствор на основе минерального масла (БР 1) и 2) раствор на основе дизельного топлива (БР 2). Содержимое колб культивировали в течение 10 сут. на качалке при 160 об/мин. Далее готовили пяти- и десятикратные разведения в стерильном физиологическом растворе с последующими посевами в нескольких повторностях на соответствующие питательные и селективные агаризованные среды.

После инкубации посевов при 28 °C через 2–3 сут подсчитывали общее число колоний гетеротрофных микроорганизмов на МПА. Количество бактерий, гидролизующих крахмал, оценивали на крахмало-аммиачной среде [12],



принимая во внимание наличие прозрачных ореолов вокруг выросших колоний после обработки среды раствором Люголя. Целлюлозоразрушающие микроорганизмы учитывали на среде Гетчинсона [13], при этом наличие целлюлозолитической активности у бактерий, гидролизующих карбоксиметилцеллюлозу (КМЦ), определяли по прозрачным зонам вокруг колоний. Количество УОМ оценивали путем подсчета характерных колоний внутри и вокруг нефтяных пятен на поверхности плотной минеральной среды М9, содержащей товарную нефть (0,4 г/л) в качестве единственного источника углерода и энергии [14]. Для учета численности бактерий-деструкторов НПАВ колонии, выросшие на чашках Петри с селективной средой М9 и синтанолом АЦСЭ-12 (0,2 г/л) в качестве НПАВ, обрабатывали реагентом Драгендорфа и по наличию неокрашенных зон вокруг колоний на оранжевом фоне среды судили о присутствии микроорганизмов-деструкторов НПАВ [15].

Прямой высеv бактерий из образцов буровых шламов (1 г) производили непосредственно на ряд вышеперечисленных сред.

При изучении субстратного спектра бактерий в качестве единственного источника углерода и энергии использовали: товарную нефть, вазелиновое масло, дизельное топливо, буровой раствор на основе минерального масла и ряд индивидуальных углеводов: *n*-алканы (гексан, гептан, октан, декан, гексадекан), ароматические соединения (бензол, толуол, ксилол, кумол, нитробензол) и алициклические (циклогексан). Многокомпонентные субстраты стерилизовали отдельно и вносили в агаризованную среду М9 при равномерном перемешивании в момент розлива среды в чашки Петри. Конечная концентрация субстратов составляла 0,4 г/л. Способность микроорганизмов использовать для роста нефть и нефтепродукты определяли с помощью чашечного метода Мак-Кланга, согласно которому отмечалось наличие роста культуры вокруг и внутри капель нефтяного субстрата на поверхности плотной минеральной среды [14].

Способность штаммов к деструкции индивидуальных углеводов (0,4 г/л) определяли с помощью метода лунок [16]. Углеводород вносили в лунку диаметром 8 мм, проделанную стерильным пробочным сверлом в центре агаризованной минеральной среды на чашке Петри. Он равномерно диффундировал в агар и частично испарялся, так что культивирование проводили одновременно и на твердом субстрате, и в паре

углеводородов. Вокруг лунки с субстратом производили штрихом посев культур. О деструкции углеводов судили по интенсивности роста тест-культур на 1–7-е сут инкубации в термостате при 28 °С.

Математическую обработку полученных данных выполняли с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2003.

Результаты и их обсуждение

В ходе проведенных исследований было показано, что численность гетеротрофных микроорганизмов, выделенных прямым высеvом, в микробных сообществах анализируемых образцов БШ 1 и БШ 2 составляла 1×10^3 и $8,9 \times 10^3$ кл/г соответственно (табл. 1). Нами исследовались только аэробные бактерии микробных сообществ, так как для микробной утилизации буровых шламов, размещенных на специальных территориях (площадках, амбарах и т.д.), предпочтительнее использование аэробных бактерий.

В связи с многокомпонентным составом буровых шламов, включающим, кроме углеводородной основы, различные химические соединения, такие как ПАВ, крахмал, КМЦ и др. для более подробной характеристики микробных сообществ буровых шламов оценивали количество бактерий, гидролизующих крахмал, КМЦ, а также микроорганизмов-деструкторов НПАВ и УОМ.

Как было установлено (см. табл. 1), в образце БШ 2 содержалось: УОМ – $6,1 \times 10^3$ кл/г и $8,8 \times 10^2$ кл/г микроорганизмов, гидролизующих крахмал. При этом не обнаруживались микроорганизмы-деструкторы синтаноло АЦСЭ-12 и КМЦ. Микробное сообщество образца БШ 1 не отличалось разнообразием, т.к. здесь не выявлялись в заметном количестве УОМ, деструкторы синтаноло АЦСЭ-12, КМЦ и крахмала.

При выделении бактерий методом накопительного культивирования в качестве единственного источника углерода и энергии использовали углеводородные субстраты, к которым, предположительно, микроорганизмы буровых шламов могли быть частично адаптированы – это буровые растворы на основе минерального масла и дизельного топлива. Данные по общей численности гетеротрофных микроорганизмов и содержанию УОМ, микроорганизмов-деструкторов НПАВ и бактерий, гидролизующих крахмал и КМЦ, полученные при анализе накопительных культур с использованием образцов буровых шламов, представлены в табл. 1.



Таблица 1

Содержание микроорганизмов различных физиологических групп в буровых шламах

Образец	Методы выделения микроорганизмов	Численность бактерий, кл/г(мл)				
		гетеротрофных	УОМ	гидролизующих крахмал	гидролизующих КМЦ	деструкторов НПАВ
БШ 1	1. Прямой высев	$1,0 \times 10^3 \pm 0,30$	$<50 \pm 0,44$	$<50 \pm 0,00$	$<50 \pm 0,00$	$<50 \pm 0,00$
	2. Накопительное культивирование (+БР 1)	$2,8 \times 10^5 \pm 0,58$	$4,4 \times 10^4 \pm 0,22$	$<50 \pm 0,00$	$<50 \pm 0,00$	$<50 \pm 0,00$
	3. Накопительное культивирование (+БР 2)	$2,0 \times 10^4 \pm 0,22$	$1,1 \times 10^4 \pm 0,44$	$4,3 \times 10^2 \pm 0,42$	$<50 \pm 0,44$	$<50 \pm 0,00$
БШ 2	1. Прямой высев	$8,9 \times 10^3 \pm 0,38$	$6,1 \times 10^3 \pm 0,34$	$8,8 \times 10^2 \pm 0,46$	$<50 \pm 0,54$	$<50 \pm 0,00$
	2. Накопительное культивирование (+БР 1)	$1,4 \times 10^5 \pm 0,38$	$4,3 \times 10^4 \pm 0,45$	$6,9 \times 10^3 \pm 0,58$	$<50 \pm 0,00$	$<50 \pm 0,00$
	3. Накопительное культивирование (+БР 2)	$1,8 \times 10^5 \pm 0,40$	$1,6 \times 10^4 \pm 0,28$	$4,2 \times 10^3 \pm 0,52$	$<50 \pm 0,00$	$<50 \pm 0,00$

Примечание. «<50» означает, что при высеве бактерий из разведения 1:5 микроорганизмы соответствующих групп не обнаруживались.

Результаты экспериментов показали, что добавление в среду культивирования селективных источников питания увеличило количество бактерий ряда вышеперечисленных групп по сравнению с прямым высевом микроорганизмов из буровых шламов. В образце шлама БШ 1 общее содержание гетеротрофных бактерий возросло в 10 раз при культивировании его с буровым раствором на основе дизельного топлива и значительно выше – на два порядка – с раствором на основе минерального масла. Использование данных растворов на углеводородной основе в качестве питательных субстратов способствовало, в значительной степени, развитию группы УОМ. При прямом высеве из данного образца УОМ обнаружить не удалось, тогда как при накопительном культивировании численность УОМ достигла значений: $1,1 \times 10^4$ и $4,4 \times 10^4$ кл/мл при введении в среду буровых растворов на основе дизельного топлива и минерального масла соответственно. В образце БШ 1 по сравнению с прямым высевом количество микроорганизмов, гидролизующих крахмал, при культивировании их с модельным раствором на основе дизельного топлива (БР 2) возросло на 2 порядка, при этом добавление бурового раствора на основе минерального масла (БР 1) не повлияло на количество данной группы бактерий.

В образце БШ 2 общая численность гетеротрофных микроорганизмов, так же как и в БШ 1, достигла значений 10^5 кл/мл при культивировании его с растворами БР 1 и БР 2, численность

УОМ – 10^4 кл/мл, примерно в 10 раз увеличилось количество бактерий, гидролизующих крахмал. Оба буровых раствора, использованных нами в качестве селективных реагентов, в равной степени способствовали развитию микроорганизмов разных групп, содержащихся в шлеме БШ 2, в отличие от образца БШ 1, где буровой раствор на основе минерального масла в большей степени стимулировал рост гетеротрофных бактерий и УОМ.

Следует отметить, что добавки в среду культивирования в виде буровых растворов не стимулировали развитие бактерий-деструкторов НПАВ и КМЦ в обоих образцах буровых шламов, что может быть связано с достаточно низкой концентрацией этих реагентов в составе растворов или их токсичностью.

Таким образом, можно отметить, что аэробные гетеротрофные бактерии содержатся в буровых шламах в разных количествах, что обусловлено, вероятно, особенностями условий окружающей среды, а также различным составом выбуренной породы и, как следствие, наличием различных источников питательных веществ. Среди бактерий, входящих в сообщества буровых шламов, обнаруживаются УОМ, микроорганизмы, гидролизующие крахмал. Это создает предпосылки для выделения из таких сообществ активных деструкторов реагентов буровых шламов и буровых растворов, в том числе опасных для окружающей среды.



В результате проведенных экспериментов из буровых шламов нами были изолированы 8 чистых микробных культур, которые в дальнейшем исследовались более подробно. Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили по результатам изучения морфологии, физиологии и биохимии клеток по определителю бактерий Берджи [17] и на основе анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена 16S рРНК (г. Москва).

Прямым высевом из БШ 1 выделили штамм *Bacillus circulans* НШ, из БШ 2 – *Halomonas* sp. ОБР 1 и *Staphylococcus epidermidis* ОБР 2. Методом накопительного культивирования из варианта БШ 1, где в качестве единственного источника углерода был буровой раствор БР 2, выделили: *Bacillus firmus* ОБР 3.1, *Solibacillus silvestris* ОБР 3.2, *Bacillus circulans* ОБР 3.3; при использовании бурового раствора БР 1 из этого образца изолировали *Bacillus firmus* ОБР 1.1; из образца БШ 2 с буровым раствором БР 2 – *Erwinia rhapontici* ОБР 4.1.

В связи с тем что углеводородная составляющая РУО представляет большую экологическую опасность для окружающей среды и требует быстрого и полного разрушения, мы исследовали бактерии, выделенные из микробных сообществ буровых шламов, на способность к деградации нефтяных углеводородов.

Исследуя деструктивный потенциал микроорганизмов, выделенных из буровых шламов, мы выбрали в качестве питательного субстрата, прежде всего, буровой раствор на основе минерального масла, а также нефтепродукты, которые часто являются дисперсионной средой РУО – это нефть, дизельное топливо, вазелиновое масло. Также в качестве единственного источника углерода и энергии для микроорганизмов в минеральную среду вносили ряд индивидуальных углеводородов: *n*-алканы (гексан, гептан, октан, декан, гексадекан), ароматические (бензол, толуол, ксилол, кумол, нитробензол) и алициклические (циклогексан) соединения. Полученные данные отражены в табл. 2.

Таблица 2

Субстратный спектр исследуемых микроорганизмов

Субстрат	Оценка роста штаммов							
	<i>Bacillus firmus</i> ОБР 1.1	<i>Bacillus firmus</i> ОБР 3.1	<i>Solibacillus silvestris</i> . ОБР 3.2	<i>Bacillus circulans</i> ОБР 3.3	<i>Erwinia rhapontici</i> ОБР 4.1	<i>Halomonas</i> sp. ОБР 1	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ОБР 2	<i>Bacillus circulans</i> НШ
Буровой раствор	+	+	+	+	+	+	+	+
Нефть	+	+	+	+	+	+	+	+
Вазелиновое масло	+	+	-	+	+	+	-+	+
Дизельное топливо	+	+	-	+	+	+	+	+
<i>n</i> -алканы: Гексан	+–	+–	+	+	+–	+–	-	+–
Гептан	+–	+	+	+–	+	+	-	+
Октан	+–	+–	+	+–	-	-	+–	+–
Декан	+–	+–	+	+	+–	+–	-+	+–
Гексадекан	+	+	+	+	-	+–	-	+
Ароматические углеводороды: Бензол	-+	+	+	+	-+	-+	-+	-+
Толуол	+	-+	-	+–	-	-	-	-+
Ксилол	-+	+	-	+	-+	-+	+	+
Кумол	-	-	-	-	-	-	-	-
Нитробензол	+–	-	-	-	-	-+	-+	-
Нафты: Циклогексан	-	-+	-	-	-	-	-+	-

Примечание. «-» – отсутствие роста; «-+» – едва выраженный рост; «+ –» – заметный рост; «+» – отчетливый рост.



Все исследуемые микробные штаммы характеризовались отчетливым ростом на всех используемых нефтепродуктах, за исключением *Solibacillus silvestris* ОБР 3.2, рост которого на среде с вазелиновым маслом и дизельным топливом не наблюдался. На индивидуальных нефтяных углеводородах исследуемые бактерии росли с различной интенсивностью.

Среди них можно выделить несколько бактериальных культур (*Bacillus firmus* ОБР 1.1; *Bacillus firmus* ОБР 3.1; *Bacillus circulans* ОБР 3.3; *Bacillus circulans* НШ), которые активно использовали для роста все тестируемые нами нефтепродукты и индивидуальные углеводороды. Микробный штамм *Staphylococcus epidermidis* ОБР 2, несмотря на проявленную способность расти на всех исследуемых нефтепродуктах, характеризовался отсутствием роста на индивидуальных углеводородах. Все исследуемые бактерии оказались не способны усваивать циклогексан в качестве единственного источника углерода и энергии, что свидетельствует о высокой токсичности нефтяных углеводородов для исследуемых микроорганизмов.

Следует отметить, что, несмотря на высокую токсичность ароматических углеводородов, в частности нитробензола [18, 19], микробный штамм *Bacillus firmus* ОБР 1.1 отличался едва выраженным ростом на нитробензоле и отчетливым ростом на толуоле. Бактерии *Bacillus firmus* ОБР 3.1; *Solibacillus silvestris* ОБР 3.2 и *Bacillus circulans* ОБР 3.3 характеризовались отчетливым ростом на среде с бензолом.

Заключение

Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что буровые шламы представляют собой источник специализированных микроорганизмов, способных к разложению различных ксенобиотиков. При этом в микробных сообществах буровых шламов доминируют углеводородокисляющие микроорганизмы. Широкий субстратный спектр в отношении нефтяных углеводородов, обнаруженный у выделенных бактерий, свидетельствует о перспективности использования таких микроорганизмов в технологиях микробной утилизации буровых отходов.

Список литературы

1. Быков И. Ю. Техника экологической защиты Крайнего Севера при строительстве скважин. Л. : Изд-во Ленингр. ун-та, 1991. 240 с.
2. Балаба В. И. Обеспечение экологической безопасности строительства скважин на море // Бурение и нефть. 2004. № 1. С. 18–21.
3. Ягафарова Г. Г., Барахнина В. Б. Утилизация экологически опасных буровых отходов // Нефтегазовое дело. 2006. № 2. С. 48–61.
4. Герасимова М. С. Выбор технологии обезвреживания и утилизации отработанных буровых растворов // Научный потенциал студенчества – будущему России : материалы II Междунар. науч. студ. конф. Т. 3. Охрана окружающей среды и экология. Ставрополь : СевКавГТУ, 2008. С. 101–102.
5. Стабникова Е. В., Селезнева М. В., Рева О. Н., Иванов В. Н. Выбор активного микроорганизма-деструктора углеводородов для очистки нефтезагрязненных почв // Прикл. биохим. и микробиол. 1995. Т. 31, № 5. С. 534–539.
6. Сваровская Л. И., Алтунина Л. К. Активность почвенной микрофлоры в условиях нефтяных загрязнений // Биотехнология. 2004. № 3. С. 63–69.
7. Пырченкова И. А., Гафаров А. Б., Пунтус И. Ф., Филонов А. Е., Боронин А. М. Выбор и характеристика активных психротрофных микроорганизмов-деструкторов нефти // Прикл. биохим. и микробиол. 2006. Т. 42, № 3. С. 298–305.
8. Benka-Coker M. O., Olumagin A. Waste drilling fluid-utilising microorganisms in a tropical mangrove swamp oilfield location // Bioresour. Technol. 1995. № 53. P. 211–215.
9. Калюжин В. А. Очистка грунта и воды от органических присадок к буровым растворам при помощи аборигенной культуры микроорганизмов // Вест. Томск. гос. ун-та. 2009. № 325. С. 174–175.
10. Булатов А. И. Технология промывки скважин. М. : Недра, 1981. 304 с.
11. Нетрусов А. И., Егорова М. А., Захарчук Л. М. Практикум по микробиологии. М. : Академия, 2005. 608 с.
12. Меремкулова Р. Н., Саитова Ф. Н., Абалмасова О. В. Методические указания к лабораторным и практическим занятиям студентам аграрного института. Черкесск : Изд-во Черкесск. гос. технолог. академии, 2010. 46 с.
13. Зенова Г. М., Степанов А. Л., Лихачева А. А., Манучарова Н. А. Практикум по биологии почв. М. : Изд-во Моск. ун-та, 2002. 120 с.
14. Теплер Е. З., Шильникова В. К., Переверзева Г. И. Практикум по микробиологии. М. : Колос, 1993. 175 с.
15. Панченко Л. В., Муратова А. Ю., Турковская О. В., Игнатов В. В. Введение в практические занятия по экологической биотехнологии с основами микробиологии. Саратов : Науч. кн., 2005. 56 с.
16. Руководство к практическим занятиям по микробиологии : практ. пособие / под ред. Н. С. Егорова. 2-е изд. М. : Изд-во Моск. ун-та, 1983. 251 с.
17. Определитель бактерий Берджи : в 2 т. : пер. с англ. ; под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. М. : Мир, 1997.
18. Таран Д. О. Методы биотестирования в контроле токсичности и детоксикации нитробензола : автореф. дис. ... канд. биол. наук. Иркутск, 2012. 21 с.
19. Elder D. J., Kelly D. J. The bacterial degradation of benzoic and benzenoid compounds under anaerobic conditions : Unifying trends and new perspectives // Microbiol. Rev. 1994. Vol. 13. P. 441–468.