Оригинальная статья / Original article

УДК 665.9, 577.15, 579.695, 532.135

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-3-472-480>

Возможности использования базидиального гриба *Trametes hirsuta* MT-17.24 в биодеструкции полианионной целлюлозы

© А.В. Зубченко*, Е.Ю. Кожевникова*, А.В. Барков*,
Ю.А. Тополюк*, А.В. Шнырева**, В.А. Винокуров*,
Л.А. Магадова*

*Российский государственный университет нефти и газа (НИУ) им. И.М. Губкина,
Москва, Российская Федерация

**Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
Москва, Российская Федерация

Резюме: Существующие методы утилизации технологических жидкостей, используемых при строительстве нефтяных и газовых скважин (химическая нейтрализация отработанных растворов, термический метод, загущение), несмотря на их эффективность, зачастую являются дорогостоящими и неэкологичными. Базидиальные грибы являются природными деструкторами-кислототрофами, перерабатывающими лигноцеллюлозный субстрат – один из самых устойчивых биополимеров в природе. Перспективы применения ферментных препаратов на основе базидиальных грибов в качестве биодеструкторов органических веществ особенно очевидны в связи с высокотехнологичностью и безотходностью их производства. Цель работы заключалась в получении ферментного препарата на основе штамма базидиального гриба *Trametes hirsute* MT-17.24 и исследовании его способности к биодеструкции полианионной целлюлозы, применяемой в качестве структурообразователя технологических жидкостей в процессе строительства и ремонта нефтяных и газовых скважин. Проведен скрининг целлюлазной активности штаммов: *Fomitopsis pinicola* MT-5.21, *Fomes fomentarius* MT-4.05, *Lactarius necator*, *Schizophyllum commune* MT-33.01, *Trametes versicolor* It-1, *Trametes hirsute* MT-17.24, *Trametes hirsuta* MT-24.24. Для получения ферментного препарата был выбран штамм *T. hirsuta* MT-17.24, продемонстрировавший наиболее высокий коэффициент целлюлазной активности – 10,9. Подобрана среда для твердофазного культивирования данного штамма. Ферментативная активность ферментного препарата была изучена на модельной буровой технологической жидкости. В ходе 10-часового эксперимента было зафиксировано, что при использовании 1%-го ферментного препарата пластическая вязкость технологической жидкости снижается с 16 до 8 мПа·с. По результатам проведенной работы можно сделать однозначный вывод об эффективности применения ферментного препарата на основе базидиальных грибов в качестве биодеструктора полианионной целлюлозы.

Ключевые слова: базидиальные грибы, полианионная целлюлоза, ферменты, буровая технологическая жидкость, биодеструкция

Благодарности: Работа выполнена при финансовой поддержке внутреннего гранта РГУ нефти и газа (НИУ) им. И.М. Губкина № 120720 «Разработка новых биотехнологических методов и материалов для защиты окружающей среды и биомедицины».

Для цитирования: Зубченко А.В., Кожевникова Е.Ю., Барков А.В., Тополюк Ю.А., Шнырева А.В., Винокуров В.А., Магадова Л.А. Возможности использования базидиального гриба *Trametes hirsute* MT-17.24 в биодеструкции полианионной целлюлозы. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2021. Т. 11. N 3. С. 472–480. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-3-472-480>

Potential use of basidiomycota *Trametes hirsuta* MT-17.24 in biodegradation of polyanionic cellulose

Anastasia V. Zubchenko*, Elena Yu. Kozhevnikova*, Artem V. Barkov*,
Yulia A. Topolyuk*, Alla V. Shnyreva**, Vladimir A. Vinokurov*,
Lyubov A. Magadova*

*Gubkin University (National University of Oil and Gas),
Moscow, Russian Federation
**Moscow State University named after M.V. Lomonosov,
Moscow, Russian Federation

Abstract: Despite their efficiency, existing methods to dispose of drilling fluids used in the construction of oil and gas wells (chemical treatment of spent solutions, thermal method, thickening) are often expensive and unsustainable. Basidiomycota are natural xylotroph destructors that process lignocellulosic substrate – one of the most stable biopolymers in nature. Prospects for using enzyme preparations based on Basidiomycota as biodestructors of organic substances are evident due to the high efficiency and zero-waste production. The aim was to obtain an enzyme preparation based on the *Trametes hirsute* MT-17.24 Basidiomycota strain and evaluate its ability to biodegrade polyanionic cellulose, used as a viscosifier for drilling fluids in the construction and repair of oil and gas wells. Screening of cellulase activity of the following strains was carried out: *Fomitopsis pinicola* MT-5.21, *Fomes fomentarius* MT-4.05, *Lactarius necator*, *Schizophyllum commune* MT-33.01, *Trametes versicolor* It-1, *Trametes hirsute* MT-17.24, *Trametes hirsuta* MT-24.24. To obtain the enzyme preparation, the *T. hirsuta* MT-17.24 strain was selected, which demonstrated the highest coefficient of cellulase activity (10.9). A medium for solid-phase cultivation of this strain was selected. Enzymatic activity of the enzyme preparation was studied on a model drilling fluid. A 10-hour experiment showed that the use of a 1% enzyme preparation leads to a decrease in the plastic viscosity of the drilling fluid from 16 to 8 mPa·s. The research results demonstrate the efficiency of enzyme preparations based on Basidiomycota in the biodestruction of polyanionic cellulose.

Keywords: basidiomycota, polyanionic cellulose, enzymes, drilling fluid, biodegradation

Acknowledgments: The work was supported by Gubkin University internal grant no. 120720 "Development of new biotechnological methods and materials for environmental protection and biomedicine".

For citation: Zubchenko AV, Kozhevnikova EYu, Barkov AV, Topolyuk YuA, Shnyreva AV, Vinokurov VA, Magadova LA. Potential use of basidiomycota *Trametes hirsuta* MT-17.24 in biodegradation of polyanionic cellulose. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2021;11(3):472–480. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2021-11-3-472-480>

ВВЕДЕНИЕ

В современных условиях недропользования наибольшее техногенное воздействие в процессе строительства нефтяных и газовых скважин оказывается на природные экосистемы на территориях складирования отходов бурения. В Российской Федерации ежегодно объем отходов бурения возрастает в среднем на 6% и в 2021 г., по оценке ООО «АТ Консалтинг», приблизится к отметке 4,7 млн м³ в год. Связано это с большим разнообразием материалов и реагентов, применяемых при строительстве скважин, с крупнотоннажным характером образования таких отходов, а также несовершенством существующих технологий их регенерации и утилизации. Согласно законодательству Российской Федерации, отходы бурения складировются на срок не более 11 месяцев в целях их дальнейшей переработки, утилизации, обезвреживания^{1,2}. Поэтому в комплексе мер, направленных на повышение уровня экологической безопасности процесса строительства скважин, решающее значение имеет утилизация отходов бурения.

Утилизация огромного количества содержащего много буровых шламонакопителей требует разработки новых биопрепаратов, интенсифицирующих деструкцию органических компонентов буровых жидкостей для возможности дальнейшего использования, захоронения отходов бурения и рекультивации нарушенных земель.

В настоящее время в рецептурах современных буровых промывочных жидкостей широко используются высокозамещенные (степень замещения более 0,9) карбоксиметилированные производные целлюлозы – различные виды полианионной целлюлозы (ПАЦ) (рис. 1). Вследствие большого количества и равномерного распределения функциональных групп ПАЦ обладает свойствами хорошего электролита в водных растворах, что определяет особенности ее использования в буровых системах с улучшенными характеристиками по фильтрации, солеустойчивости, устойчивости к повышенным температурам и биоразложению. Буровые отходы, содержащие модифицированные полисахариды различной природы, в том числе ПАЦ, более

¹ Об отходах производства и потребления: федер. закон РФ от 24.06.1998 г. № 89-ФЗ (с изменениями и дополнениями).

² ПНСТ 472-2020. Ресурсосбережение. Обращение с отходами. Общие требования по обращению с отходами бурения: предварительный национальный стандарт РФ; утв. и введен в действие приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 27.10.2020 г. № 86-пнст.

экологичны и безопасны, чем нефтесодержащий буровой шлам. Однако сложность обезвоживания такого рода отходов, проблемы с седиментацией твердой фазы и достижением удовлетворительной деструкции полимерсодержащих компонентов в случае получения на основе этого материала вторичных продуктов приводят к проблемам в утилизации бурового шлама [1–4].

Рис. 1. Строение молекулы полианионной целлюлозы
 Fig. 1. Structure of the polyanionic cellulose molecule

Химический метод утилизации эфиров целлюлозы в составе буровых шламов предполагает использование минеральных кислот, что не удовлетворяет требованиям экологической безопасности, в то же время естественное био-разложение современных модифицированных эфиров целлюлозы в присутствии биоцидов может протекать в течение нескольких лет. Наиболее предпочтительна биологическая деструкция эфиров целлюлозы, обусловленная ферментативной активностью отдельных групп микроорганизмов, использующих эти реагенты в качестве источников питания. Согласно данным, представленным в работах [5–13], ферментативная деструкция осуществляется в результате действия комплекса целлюлаз, собранных в полиферментные системы, состоящие из экзо- и эндоферментов.

Из вышесказанного следует, что существует необходимость индивидуального подбора условий культивирования различного рода штаммов микроорганизмов и грибов с целью получения эффективного ферментного препарата для реализации экологически безопасной процедуры утилизации эфиров целлюлозы – компонентов буровых технологических жидкостей.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Объекты исследования – штаммы из коллекции базидиальных грибов лаборатории микотехнологии для нефтегазовой отрасли Российского государственного университета нефти и газа (НИУ) им. И.М. Губкина: *F. pinicola* МТ-5.21, *F. fomentarius* МТ-4.05, *L. necator*, *S. commune* МТ-33.01, *T. hirsuta* МТ-17.24, *T. hirsuta* МТ-24.24 и *T. versicolor* It-1 из коллекции "Базидиальные грибы съедобные и биотехнологически значимые" кафедры микологии и альгологии Московского гос-

ударственного университета им. М.В. Ломоносова. Ранее эти штаммы показали свою эффективность в процессах биодеструкции полисахаридов [8, 11]. Оценку целлюлазной активности штаммов проводили на чашках Петри с КМЦ-агаром (г/л: NaNO_3 – 2,0; K_2HPO_4 – 1,0; MgSO_4 – 0,5; KCl – 0,5; пептон – 0,2; АлПАЦ-НВ – 2,0; агар – 17,0) с последующим заливанием чашек разбавленным дистиллированной водой раствором Люголя (20:1) спустя 5 суток культивирования [14]. Ферментативную активность оценивали по диаметру зоны просветления вокруг колонии штамма. Коэффициент ферментативной активности вычисляли по формуле [15]:

$$A = \frac{S_{\text{зоны просветления}} - S_{\text{колонии}}}{S_{\text{колонии}}},$$

где A – коэффициент ферментативной активности; $S_{\text{зоны просветления}}$ – площадь неокрашенного участка вокруг мицелия; $S_{\text{колонии}}$ – площадь, занимаемая мицелием гриба.

Для повышения выхода биомассы проводили оптимизацию состава питательной среды с помощью метода математического планирования эксперимента [16]. На первом этапе оптимизации были исследованы трофические потребности базидиальных грибов. Варьировались различные сочетания источников углерода (глюкоза, подсолнечное масло и сусло) и азота (соевая мука, кукурузный экстракт и пептон), минеральный фон ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,25 г/л) и K_2HPO_4 (2,5 г/л)) оставался без изменений. В каждый вариант питательной среды вводили ПАЦ в соотношении 1:1 с источником углерода. На втором этапе оптимизации проводили полный факторный эксперимент (ПФЭ) с целью получения наибольшего количества биомассы путем изменения концентрации источников питания. ПФЭ был проведен для трех факторов: соевая мука (источник азота, ООО «Сойка», Россия), ПАЦ (АлПАЦ Экстра НВ, ООО «БИА-ХИМ», Россия) и подсолнечное масло (источники углерода, Благо, ООО «Компания "Благо"», Россия) на трех уровнях: максимальном (15 г/л), среднем (10 г/л) и минимальном (5 г/л), число комбинаций варьируемых факторов составило 3^3 . Варианты с минимальным содержанием ПАЦ не были включены в эксперимент, так как это противоречило основной цели эксперимента по эффективной утилизации полисахарида.

Получение ферментного препарата проводили методом твердофазного культивирования штамма *T. hirsuta* МТ-17.24 как имеющего наибольшую ферментативную активность. Затем обросший мицелием гриба субстрат высушивали и измельчали до получения мелкодисперсного порошка, который использовали в дальнейших исследованиях в качестве фер-

ментного препарата.

Определение активности ферментного препарата проводили косвенно по концентрации продуктов деструкции субстрата глюкозооксидазно-пероксидазным методом [17], используя тест-систему «Фотоглюкоза» (Импакт, РФ) и ДНС-методом, заключающимся в количественном определении суммы редуцирующих (восстанавливающих) сахаров [18]. Содержание как глюкозы, так и редуцирующих сахаров, образующихся в результате ферментативной реакции, определяли колориметрическим методом относительно калибровочных растворов и рассчитывали по градуировочному графику, построенному по стандартным растворам глюкозы для обеих методик [18, 19].

Эффективность ферментных препаратов исследовали на растворе ПАЦ (15 г/л) с минерализацией NaCl (или KCl) (50 г/л) и модельной технологической жидкости следующего состава, г/л: ПАЦ – 5–7; ксантановая камедь – 1–5; NaCl (или KCl) – 50. В качестве базового состава модельного бурового технологического раствора принята модель промывочной жидкости на основе полисахаридных структурообразователей. Изменение вязкости исследуемых растворов изучалось с использованием ротационного вискозиметра Fann 35-SA (Fann Instrument Company, США) при скорости перемешивания 300 об./мин. Погрешность измерения вязкости в температурном диапазоне 20–27 °C составила 1–2 мПа·с.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При исследовании целлюлазной активности ПАЦ выступала в качестве единственного источника углерода, что позволило достоверно судить о наличии/отсутствии целлюлазной активности исследуемых штаммов по отношению к ПАЦ. Коэффициент целлюлазной активности, превышающий значение 1, был обнаружен у штаммов *L. necator*, *T. hirsuta* MT-17.24, *F. fomentarius* MT-4.05, *F. pinicola* MT-5.21, *T. versicolor* It-1 (табл. 1). Для дальнейшей работы был выбран наиболее активный штамм – *T. hirsuta* MT-17.24, продемонстрировавший значительную зону просветления (41,7±2,1 мм) и высокий ко-

эффициент целлюлазной активности (10,9).

Результаты эксперимента по определению трофических потребностей (рис. 2) показали, что оптимальными для дальнейших исследований являлись среды с подсолнечным маслом, соевой мукой и полианионной целлюлозой, так как при использовании данных компонентов в составе питательной среды выход биомассы был наибольшим.

Рис. 2. Исследование трофических потребностей штамма *T. hirsuta* MT-17.24 (состав сред: 1 – глюкоза + соевая мука; 2 – глюкоза + кукурузный экстракт; 3 – глюкоза + пептон; 4 – подсолнечное масло + соевая мука; 5 – подсолнечное масло + кукурузный экстракт; 6 – подсолнечное масло + пептон; 7 – сусло + соевая мука; 8 – сусло + кукурузный экстракт; 9 – сусло + пептон)

Fig. 2. Study of trophic needs of *T. hirsuta* strain MT-17.24 (composition of media: 1 – glucose + soy flour; 2 – glucose + corn extract; 3 – glucose + peptone; 4 – sunflower oil + soy flour; 5 – sunflower oil + corn extract; 6 – sunflower oil + peptone; 7 – wort + soy flour; 8 – wort + corn extract; 9 – wort + peptone)

Результаты ПФЭ (табл. 2) показали, что наибольший выход биомассы (19,7±2,7 г) был получен на среде, в состав которой входили, г/л: соевая мука – 15; подсолнечное масло – 15; полианионная целлюлоза – 15; минеральные соли – $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,25) и K_2HPO_4 (2,5).

Для оценки скорости роста штамма *T. hirsuta* MT-17.24 при твердофазном культивировании были подобраны субстраты, характеристика которых приведена в табл. 3.

Таблица 1. Коэффициенты целлюлазной активности исследуемых штаммов базидиальных грибов

Table 1. Cellulase activity coefficients of the studied basidiomycete strains

Штамм	Диаметр зоны просветления, мм	Диаметр колонии, мм	Коэффициент ферментативной активности
<i>T. hirsuta</i> MT-24.24	47,3±4,2	40,0±2,6	0,4±0,1
<i>L. necator</i>	14,3±5,7	7,7±3,5	2,7±0,6
<i>T. hirsuta</i> MT-17.24	41,7±2,1	16,0±5,3	10,9±2,4
<i>S. commune</i> MT-33.01	44,0±2,6	35,3±4,0	0,6±0,4
<i>F. fomentarius</i> MT-4.05	30,0±5,6	14,3±2,1	3,5±1,2
<i>F. pinicola</i> MT-5.21	24,3±1,5	7,3±1,5	6,9±1,6
<i>T. versicolor</i> It-1	46,0±1,0	18,3±4,6	4,9±1,7

Таблица 2. Результаты реализации полного факторного эксперимента

Table 2. Implementation of the full factorial experiment

Номер среды	X ₁ (соевая мука)	X ₂ (масло)	X ₃ (ПАЦ)	Среднее значение, г/л
1	+	+	+	19,7±2,7
2	+	0	+	10,6±0,1
3	+	-	+	8,8±0,3
4	+	+	0	13,8±1,1
7	+	0	0	11,1±0,01
8	+	-	0	4,6±0,8
10	-	+	+	10,7±1,9
11	-	0	+	9,1±1,0
12	-	-	+	4,1±0,8
13	-	+	0	13,4±0,5
16	-	0	0	9,3±0,6
17	-	-	0	5,9±1,5
19	0	+	+	11,9±0,4
20	0	0	+	9,3±0,04
21	0	-	+	4,9±0,4
22	0	+	0	14,5±1,6
25	0	0	0	9,1±1,3
26	0	-	0	4,6±1,6
28	+	Нет	0	2,2±0,1
29	0	Нет	0	2,0±0,3
30	-	Нет	0	1,9±0,5

Таблица 3. Характеристика субстратов, использованных для исследования скорости роста штамма *T. hirsuta* MT-17.24 при твердофазном культивировании

Table 3. Characteristics of substrates used to study the growth rate of *T. hirsuta* MT-17.24 in solid-phase cultivation

Субстрат	Характеристика	Источник
Отруби пшеничные	Твердые оболочки пшеничных зёрен, оставшиеся после отделения от ядра зерна	Побочный продукт мукомольного производства
Жмых подсолнечника	Твердый остаток после отжима масла из семян подсолнечника	Побочный продукт маслоэкстракционной промышленности
Жом свекловичный	Экстрагированная сечка сахарной свеклы	Отход свеклосахарной промышленности
Шрот соевый	Остаток семян сои, получаемый в процессе отделения масляной части семян от твердой	Побочный продукт маслоэкстракционной промышленности
Дробина пивная	Остаток после варки дроблёного ячменя и экстрагирования сусла; содержит частицы ядер и оболочки зёрен	Отход пивной промышленности

После засева субстратов штаммом *T. hirsuta* MT-17.24 оценивали скорость роста в течение 30-ти суток (рис. 3). Наибольшая скорость роста отмечена на пшеничных отрубях и пивной дробине: полное зарастание столбика субстрата происходило на 17-е и 18-е сутки культивирования соответственно. Эти два субстрата были использованы для получения ферментного препарата. При изучении эффективности действия ферментных препаратов, полученных на разных субстратах, наибольший количественный выход глюкозы наблюдался при использовании ферментного препарата на основе пшеничных отрубей в выбранной для данного исследования максимальной концентрации – 1% (рис. 4). Использование ферментных препаратов на основе выбранных субстратов в концентрациях ниже 1% не позволило получить приемлемые результаты.

Рис. 3. Динамика роста штамма базидиального гриба *T. hirsuta* MT-17.24 при твердофазном культивировании: 1 – отруби пшеничные; 2 – дробина пивная; 3 – шрот соевый; 4 – жом свекловичный; 5 – жмых подсолнечника

Fig. 3. Dynamics of basidiomycete fungus of *T. hirsuta* MT-17.24 growth at solid-phase cultivation: 1 – wheat bran; 2 – brewer's grain; 3 – soybean meal; 4 – beet pulp; 5 – sunflower cake

Рис. 4. Изменение концентрации глюкозы при ферментативной деградации ПАЦ:
 1 – фермент/пшеничные отруби;
 2 – фермент/пивная дробина

Fig. 4. Change in glucose concentration during degradation of polyanionic cellulose:
 1 – ferment/wheat bran;
 2 – ferment/brewer's grain

Исследовалось влияние 1%-го ферментного препарата, полученного на основе пшеничных отрубей, на биодеструкцию растворов с разной концентрацией ПАЦ (5 и 15 г/л). По результатам исследования определено, что при увеличении концентрации ПАЦ с 5 до 15 г/л скорость накопления редуцирующих сахаров под действием фермента возрастает в 4,3 раза (рис. 5).

Рис. 5. Изменение концентрации редуцирующих сахаров в растворе ПАЦ:
 1 – раствор ПАЦ (15 г/л);
 2 – раствор ПАЦ (5 г/л)

Fig. 5. Change of the reducing sugars concentration in polyanionic cellulose solution:
 1 – polyanionic cellulose solution (15 g/l);
 2 – polyanionic cellulose solution (5 g/l)

На рис. 6 приведены результаты исследования ферментативного изменения пластической вязкости в минерализованных (NaCl (или KCl) 50 г/л) и неминерализованных модельных смесях полимеров – модельных технологических жидкостях (ПАЦ – 5 г/л, ксантановая камедь – 3 г/л) и растворах ПАЦ (15 г/л). Эффективность действия ферментного препарата определялась снижением пластической вязкости с течением времени. Для изучаемых растворов было показано, что вязкость раствора начинает снижаться при введении фермента уже через несколько минут, а через несколько часов уменьшается кратно, при этом минерализация исследуемых жидкостей в условиях эксперимента не оказыва-

ла значительного влияния на исследуемые зависимости. В контрольных экспериментах снижения вязкости полимерных растворов не наблюдалось. В условиях 10-часового эксперимента наблюдали снижение вязкости минерализованного раствора ПАЦ с 15 до 2 мПа·с и вязкости минерализованной модельной технологической жидкости с 16 до 8 мПа·с.

Рис. 6. Изменение показателя пластической вязкости в присутствии 1%-го ферментного препарата:
 1 и 1' – минерализованная и неминерализованная модельная технологическая жидкость;
 2 и 2' – минерализованный и неминерализованный раствор ПАЦ

Fig. 6. Change in the plastic viscosity index in the presence of 1 wt% of enzyme preparation:
 1 and 1' – mineralized and non-mineralized model drilling fluid;
 2 and 2' – mineralized and non-mineralized polyanionic cellulose solution

Дальнейшее изучение изменения вязкости минерализованной модельной технологической жидкости в течение нескольких суток показало, что вязкость раствора не изменялась и по истечении 3-х суток ее значение осталось на уровне 8 мПа·с. Снижение пластической вязкости модельной смеси полимеров до постоянного значения можно объяснить отсутствием достаточной ферментативной активности в отношении ксантановой камеди.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследований подобрана питательная среда для культивирования штамма *T. hirsuta* MT-17.24 следующего состава: соевая мука (15 г/л), подсолнечное масло (15 г/л), полианионная целлюлоза (15 г/л) и минеральные соли – $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (0,25 г/л) и K_2HPO_4 (2,5 г/л). Культивирование на данной среде обеспечило выход биомассы в количестве 19,7 г/л. Ферментный препарат получен путем твердофазного культивирования штамма базидиального гриба *T. hirsuta* MT-17.24, в качестве твердого субстрата выбраны пшеничные отруби.

Установлена эффективность ферментного препарата на основе штамма базидиального гриба *T. hirsuta* MT-17.24 в биодеструкции ПАЦ –

компонента технологических жидкостей, применяемых в процессе строительства и ремонта нефтяных и газовых скважин. Ферментативная активность полученного препарата была изучена на модельной буровой технологической жидкости. Показано, что биодеструкция раствора ПАЦ концентрацией 15 г/л начинается уже через несколько минут после введения 1% масс. ферментного препарата, по прошествии 10 ч вяз-

кость раствора снижается в 7,5 раз, в то время как вязкость модельной буровой жидкости снижается до определенного значения, что может объясняться незначительной ферментной активностью препарата в отношении ксантановой камеди – компонента модельной смеси, при этом минерализация изучаемых растворов в условиях эксперимента не оказывала значительного влияния на исследуемые зависимости.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mahto V., Sharma V.P. Rheological study of a water based oil well drilling fluid // *Journal of Petroleum Science and Engineering*. 2004. Vol. 45. Issue 1-2. P. 123–128. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2004.03.008>
2. Gao X., Chang Y., Shi L., Li H., Zhao J., Sha B., et al. Treatment of waste drilling mud by domesticated complex microbial flora // *Acta Microbiologica Sinica*. 2019. Vol. 59. Issue 01. P.134–144. <https://doi.org/10.13343/j.cnki.wsxb.20180093-en>
3. Bland R.G., Clapper D.K., Fleming N.M., Hood C.A. Biodegradation and drilling fluid chemicals. Society of Petroleum Engineers. SPE/IADC Drilling Conference, Amsterdam Netherlands. 22–25 February 1993. <https://doi.org/10.2118/25754-ms>
4. Al-Hameedi A.T.T., Alkinani H.H., Alkhamis M.M., Dunn-Norman S. Utilizing a new eco-friendly drilling mud additive generated from wastes to minimize the use of the conventional chemical additives // *Journal of Petroleum Exploration and Production Technology*. 2020. Vol. 10. P. 3467–3481. <https://doi.org/10.1007/s13202-020-00974-6>
5. Elisashvili V.I., Khardziani T.Sh., Tsiklauri N.D., Kachlishvili E.T. Cellulase and xylanase activities in higher basidiomycetes // *Biochemistry (Moscow)*. 1999. Vol. 64. Issue 6. P. 718–722. <https://doi.org/10.1023/B:WIBI.0000043195.80695.17>
6. Khvedelidze R., Tsiklauri N., Kutateladze L., Sadunishvili T., Darbaidze Z., Kvesitadze E. Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic agricultural wastes to fermentable glucose // *Agricultural Research and Technology: Open Access Journal*. 2018. Vol. 17. Issue 5. P. 00199–00205. 556042. <https://doi.org/10.19080/ARTOAJ.2018.17.556042>
7. Максина Е.В., Пименов А.А., Ермаков В.В., Быков Д.Е. Экспериментальная оценка возможности применения ферментативного обезвоживания отработанного бурового раствора // *Нефтяное хозяйство* 2014. N 9. С. 125-127.
8. Kozhevnikova E.Y., Petrova D.A., Novikov A.A., Shnyreva A.V., Barkov A.V., Vinokurov V.A. Prospects for the use of new basidiomycete strains for the direct conversion of lignocellulose into ethanol // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2017. Vol. 53. Issue 5. P. 557–561. <https://doi.org/10.1134/S0003683817050106>
9. Максина Е.В., Ермаков В.В. Биологическая деструкция отработанных полисахаридсодержащих буровых растворов // *Экология и промышленность России*. 2016. Т. 20. N 9. С. 12–15.
10. Karlsson J., Momcilovic D., Wittgren B., Schüle M., Tjerneld F., Brinkmalm G. Enzymatic degradation of carboxymethyl cellulose hydrolyzed by the endoglucanases Cel5A, Cel7B, and Cel45A from *Humicola insolens* and Cel7B, Cel12A and Cel45Acore from *Trichoderma reesei* // *Biopolymers*. 2001. Vol. 63. Issue 1. P. 32–40. <https://doi.org/10.1002/bip.1060>
11. Kozhevnikova E.Y., Petrova D.A., Novikov A.A., Shnyreva A.V., Barkov A.V., Vinokurov V.A. Prospects for the use of new basidiomycete strains for the direct conversion of lignocellulose into ethanol // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2017. Vol. 53. Issue 5. P. 557–561. <https://doi.org/10.1134/S0003683817050106>
12. Betty Anita B., Thatheyus A.J., Ramya D. Biodegradation of carboxymethyl cellulose using *Aspergillus flavus* // *Science International*. 2013. Vol. 1. Issue 4. P. 85–91. <https://doi.org/10.17311/sciintl.2013.85.91>
13. Kozhevnikova E.Y., Petrova D.A., Kopitsyn D.S., Novikov A.A., Shnyreva A.V., Barkov A.V., et al. New strains of basidiomycetes that produce bioethanol from lignocellulose biomass // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2016. Vol. 52. Issue 6. P. 638–642. <https://doi.org/10.1134/S0003683816060090>
14. Kasana RC, Salwan R, Dhar H, Dutt S, Gulati A. A rapid and easy method for the detection of microbial cellulases on agar plates using Gram's iodine. *Current Microbiology*. 2008;57(5):503–507. <https://doi.org/10.1007/s00284-008-9276-8>
15. Bradner J.R., Gillings M., Nevalainen K.M.H. Qualitative assessment of hydrolytic activities in Antarctic microfungi grown at different temperatures on solid media // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 1999. Vol. 15. Issue 1. P. 131–132. <https://doi.org/10.1023/A:1008855406319>
16. Kreutz C., Timmer J. Systems biology: experimental design // *The FEBS Journal*. 2009. Vol. 276. Issue 4. P. 923–942. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06843.x>
17. Bisswanger H. Practical enzymology. Second, completely revised edition. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH and Co, 2011. 376 p.
18. Miller G.L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar // *Analytical Chemistry*. 1959. Vol. 31. Issue 3. P. 426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
19. Ghose T.K. Measurement of cellulase activities

REFERENCES

1. Mahto V, Sharma VP. Rheological study of a water based oil well drilling fluid. *Journal of Petroleum Science and Engineering*. 2004;45(1-2):123–128. <https://doi.org/10.1016/j.petrol.2004.03.008>
2. Gao X, Chang Y, Shi L, Li H, Zhao J, Sha B, et al. Treatment of waste drilling mud by domesticated complex microbial flora. *Acta Microbiologica Sinica*. 2019;59(01):134–144. <https://doi.org/10.13343/j.cnki.wsxb.20180093-en>
3. Bland RG, Clapper DK, Fleming NM, Hood CA. Biodegradation and drilling fluid chemicals. Society of Petroleum Engineers. SPE/IADC Drilling Conference, Amsterdam Netherlands. 22–25 February 1993. <https://doi.org/10.2118/25754-ms>
4. Al-Hameedi ATT, Alkinani HH, Alkhamis MM, Dunn-Norman S. Utilizing a new eco-friendly drilling mud additive generated from wastes to minimize the use of the conventional chemical additives. *Journal of Petroleum Exploration and Production Technology*. 2020;10:3467–3481. <https://doi.org/10.1007/s13202-020-00974-6>
5. Elisashvili VI, Khardziani TSh, Tsiklauri ND, Kachlishvili ET. Cellulase and xylanase activities in higher basidiomycetes. *Biochemistry (Moscow)*. 1999;64(6):718–722. <https://doi.org/10.1023/B:WIBI.000043195.80695.17>
6. Khvedelidze R, Tsiklauri N, Kutateladze L, Sadunishvili T, Darbaidze Z, Kvesitadze E. Enzymatic hydrolysis of lignocellulosic agricultural wastes to fermentable glucose. *Agricultural Research and Technology: Open Access Journal*. 2018;17(5):00199–00205. 556042. <https://doi.org/10.19080/ARTOAJ.2018.17.556042>
7. Maksina EV, Pimenov AA, Ermakov VV, Bykov DE. Experimental estimation of possibility of application of enzymatic dewatering waste drilling mud. *Neftyanoe khozyaystvo = Oil Industry*. 2014;9:125–127. (in Russian)
8. Kozhevnikova EY, Petrova DA, Novikov AA, Shnyreva AV, Barkov AV, Vinokurov VA. Prospects for the use of new basidiomycete strains for the direct conversion of lignocellulose into ethanol. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2017;53(5):557–561. <https://doi.org/10.1134/S0003683817050106>
9. Maksina EV, Ermakov VV. Biological destruction of a polysaccharide containing waste drilling. *Ekologia i promyshlennost Rossii = Ecology and Industry of Russia*. 2016;20(9):12–15. (In Russian) <https://doi.org/10.18412/1816-0395-2016-9-12-15>
10. Karlsson J, Momcilovic D, Wittgren B, Schüle M, Tjerneld F, Brinkmalm G. Enzymatic degradation of carboxymethyl cellulose hydrolyzed by the endoglucanases Cel5A, Cel7B, and Cel45A from *Humicola insolens* and Cel7B, Cel12A and Cel45Acore from *Trichoderma reesei*. *Biopolymers*. 2001;63(1):32–40. <https://doi.org/10.1002/bip.1060>
11. Kozhevnikova EY, Petrova DA, Novikov AA, Shnyreva AV, Barkov AV, Vinokurov VA. Prospects for the use of new basidiomycete strains for the direct conversion of lignocellulose into ethanol. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2017;53(5):557–561. <https://doi.org/10.1134/S0003683817050106>
12. Betty Anita B, Thatheyus AJ, Ramya D. Biodegradation of carboxymethyl cellulose using *Aspergillus flavus*. *Science International*. 2013;1(4):85–91. <https://doi.org/10.17311/sciintl.2013.85.91>
13. Kozhevnikova EY, Petrova DA, Kopitsyn DS, Novikov AA, Shnyreva AV, Barkov AV, et al. New strains of basidiomycetes that produce bioethanol from lignocellulose biomass. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2016;52(6):638–642. <https://doi.org/10.1134/S0003683816060090>
14. Kasana RC, Salwan R, Dhar H, Dutt S, Gulati A. A rapid and easy method for the detection of microbial cellulases on agar plates using Gram's iodine. *Current Microbiology*. 2008;57(5):503–507. <https://doi.org/10.1007/s00284-008-9276-8>
15. Bradner JR, Gillings M, Nevalainen KMH. Qualitative assessment of hydrolytic activities in Antarctic microfungi grown at different temperatures on solid media. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 1999;15(1):131–132. <https://doi.org/10.1023/A:1008855406319>
16. Kreutz C, Timmer J. Systems biology: experimental design. *The FEBS Journal*. 2009;276(4): 923–942. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06843.x>
17. Bisswanger H. *Practical enzymology*. 2nd ed. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH and Co; 2011. 376 p.
18. Miller GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*. 1959;31(3):426–428. <https://doi.org/10.1021/ac60147a030>
19. Ghose TK. Measurement of cellulase activities. *Pure and Applied Chemistry*. 1987;59(2):257–268. <https://doi.org/10.1351/pac198759020257>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Зубченко Анастасия Валентиновна,
магистрант,
Российский государственный университет
нефти и газа (НИУ) им. И.М. Губкина,
119991, г. Москва, Ленинский пр-т, 65/1,
Российская Федерация,
✉ e-mail: zubchenkoan@yandex.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Anastasia V. Zubchenko,
Master Student,
Gubkin University (National University
of Oil and Gas),
65/1, Leninskii Ave., Moscow, 119991,
Russian Federation,
✉ e-mail: zubchenkoan@yandex.ru

Кожевникова Елена Юрьевна,
к.х.н., ведущий инженер,
Российский государственный университет
нефти и газа (НИУ) им. И.М. Губкина,
119991, г. Москва, Ленинский пр-т, 65/1,
Российская Федерация,
e-mail: elena_karpova89@bk.ru

Барков Артем Вадимович,
к.б.н., ведущий инженер,
Российский государственный университет
нефти и газа (НИУ) им. И.М. Губкина,
119991, г. Москва, Ленинский пр-т, 65/1,
Российская Федерация,
e-mail: barkov220@gmail.com

Тополук Юлия Анатольевна,
к.т.н., доцент,
Российский государственный университет
нефти и газа (НИУ) им. И.М. Губкина,
119991, г. Москва, Ленинский пр-т, 65/1,
Российская Федерация,
e-mail: topolyuk.y@gubkin.ru

Шнырева Алла Викторовна,
д.б.н., профессор,
Московский государственный университет
им. М.В. Ломоносова,
119234, Москва, Ленинские горы, 1/12,
Российская Федерация,
e-mail: ashn@mail.ru

Винокуров Владимир Арнольдович,
д.х.н., профессор,
Российский государственный университет
нефти и газа (НИУ) им. И.М. Губкина,
119991, г. Москва, Ленинский пр-т, 65/1,
Российская Федерация,
e-mail: inok.ac@mail.ru

Магадова Любовь Абдулаевна,
д.т.н., профессор,
Российский государственный университет
нефти и газа (НИУ) им. И.М. Губкина,
119991, г. Москва, Ленинский пр-т, 65/1,
Российская Федерация,
e-mail: lubmag@gmail.com

Заявленный вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад
в подготовку публикации.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта
интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили оконча-
тельный вариант рукописи.*

*Поступила в редакцию 09.07.2021.
Одобрена после рецензирования 26.08.2021.
Принята к публикации 30.08.2021.*

Elena Yu. Kozhevnikova,
Cand. Sci (Chemistry), Leading Engineer,
Gubkin University (National University
of Oil and Gas),
65/1, Leninskii Ave., Moscow, 119991,
Russian Federation,
e-mail: elena_karpova89@bk.ru

Artem V. Barkov,
Cand. Sci (Biology), Leading Engineer,
Gubkin University (National University
of Oil and Gas),
65/1, Leninskii Ave., Moscow, 119991,
Russian Federation,
e-mail: barkov220@gmail.com

Yulia A. Topolyuk,
Cand. Sci (Engineering), Associate Professor,
Gubkin University (National University
of Oil and Gas),
65/1, Leninskii Ave., Moscow, 119991,
Russian Federation,
e-mail: topolyuk.y@gubkin.ru

Alla V. Shnyreva,
Dr. Sci (Biology), Professor,
Moscow State University
named after M.V. Lomonosov,
1/12, Leninskie gory, Moscow, 119234,
1, building 12, Faculty of Biology,
Russian Federation,
e-mail: ashn@mail.ru

Vladimir A. Vinokurov,
Dr. Sci (Chemistry), Professor,
Gubkin University (National University
of Oil and Gas),
65/1, Leninskii Ave., Moscow, 119991,
Russian Federation,
e-mail: inok.ac@mail.ru

Lyubov A. Magadova,
Dr. Sci (Engineering), Professor,
Gubkin University (National University
of Oil and Gas),
65/1, Leninskii Ave., Moscow, 119991,
Russian Federation,
e-mail: lubmag@gmail.com

Contribution of the authors

The authors contributed equally to this article.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests re-
garding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved
by all the co-authors.*

*The article was submitted 09.07.2021.
Approved after reviewing 26.08.2021.
Accepted for publication 30.08.2021.*