

## Результаты выполнения проекта за 2015 год

Программа исследований 2015 г. выполнена полностью.

Получены следующие основные результаты:

Получено пионерное семейство долговременных форм сельскохозяйственных препаратов различного действия, депонированных в полимерный матрикс из разрушаемого поли-3-гидроксибутирата [П(ЗГБ)]: гербицидов метрибузина (МЕТ) и 2,4-хлоруксусной кислоты (2,4-Д) в виде пленок, 3D форм, микрогранул, микрочастиц с различной нагрузкой полимерной основы действующим веществом (от 10 до 50% от массы полимерной основы); фунгицида тебуконазола (ТЕБ) в виде пленок, 3D прессованных форм, гранул и микрочастиц при различной нагрузке полимерной основы действующим веществом; формы пролонгированного азотного удобрения с использованием карбамида и аммиачной селитры в виде пленок и 3D-форм, а также в виде коммерческой фирмы в виде гранул с полимерным покрытием.

С применением электронной микроскопии исследована микроструктура поверхности разработанных различных форм препаратов, а также краевые углы и энергетические характеристики поверхности; относительно микрочастиц исследованы размеры частиц и их электрокинетический потенциал и зависимость этих характеристик от типа действующего вещества и его содержания в частицах. Результаты измерения исходных субстанций (полимера и препаратов) и разработанных форм П(ЗГБ)/МЕТ и П(ЗГБ)/ТЕБ разных типов, с различным соотношением "полимерная основа/препарат" методами ДСК и X-Ray подтвердили результаты 2014 года, показавшие, что наполнение полимерной основы препаратами не влияет выражено на физико-химические характеристики и, следовательно, эксплуатационные свойства полимера, а также и то, что в процессе получения форм и смешения компонентов не происходит их химического связывания, и полученные системы представляют физические смеси. Независимо от формы, по сравнению с исходным полимером зафиксировано снижение температуры и энтальпии плавления и деградаци (T<sub>пл</sub>, T<sub>дегр</sub>, энтальпии) всех образцов, а также снижение степени кристалличности (C<sub>x</sub>). Это позволяет заключить, что наполнение полимера исследованными препаратами, влияя на процесс кристаллизации, сопровождается некоторой аморфизацией полимера. В отчетном году с применением высокоэффективной жидкостной хроматографии исследованы молекулярно-массовые характеристики разработанных форм препаратов в сравнении с исходным полимером и показано, что процессы переработки полимера (испарение растворителя, техника микронизации эмульсий, контактное холодное прессование) из его различных фазовых состояний (растворы, эмульсии, порошки) не влияют на значения средневесовой и среднечисловой молекулярной массы и полидисперсность полимера.

Для исследования "времени жизни" полимерных форм препаратов и динамики выхода действующих веществ из полимерной основы сконструированы и охарактеризованы лабораторные почвенные экосистемы с двумя типами агрогеннопреобразованных почв (полевой и садовой). Исследованы характеристики почв, включая химический состав и структуру микробиоценозов. Выявлены значительные различия в составе эколого-трофических групп микроорганизмов в полевой и огородной почвах, включая количество копиотрофных, прототрофных и олиготрофных бактерий; показано, что в полевой почве общая численность органотрофных бактерий в 4 раза ниже, чем в огородной; микромицетов – в 8 раз, но сообщество микроорганизмов более разнообразное.

На основании морфологических, физиолого-биохимических и молекулярно-генетических исследований фрагментов гена 16S рРНК определены доминирующие представители микроорганизмов в исследуемых образцах почв. Последовательности депонированы в базе данных GenBank. Зарегистрировано доминирование в полевой почве

актинобактерий, в том числе *Streptomyces* (24 %), представителей родов *Arthrobacter* (18 %) и *Corynebacterium* (12 %); среди грамотрицательных палочек доминировали *Pseudoxanthomonas* (12 %). В огородной почве доминировали представители других родов: *Bacillus* (48 %), *Micrococcus* (8 %), *Pseudomonas* (8 %) и *Variovorax* (8 %). Среди микромицетов в обоих типах почвы доминировали представители рода *Penicillium* (58-65%), грибы родов *Fusarium*, *Trichoderma* и *Aspergillus* составляли 8-11% популяции микромицетов в полевой почве.

Высев проб на плотные среды (метод прозрачных зон) из пленок обрастания, образующихся на поверхности образцов форм, депонированных в полимерную основу, после экспонирования в почве позволило выделить ключевые виды микроорганизмов-деструкторов исследуемых типов разрушаемых полимеров и определить их систематическую принадлежность. Впервые проведено выделение и идентификация деструкторов полимеров класса полигидроксиалканоаты (ПГА) различного химического строения. Помимо специфичных видов, среди общих деструкторов для исследованных 3-х типов полимеров - гомогенного поли-3-гидроксибутирата [П(ЗГБ)] и сополимеров 3-гидроксибутирата с 4-гидроксибутиратом [П(ЗГБ/4ГБ)] и 3-гидроксивалератом [П(ЗГБ/3ГВ)], - определены представители рода *Variovorax*, а для всех 4-х типов, включая еще сополимеры с 3-гидроксигексаноатом [П(ЗГБ/3ГГ)], общим является *Streptomyces*.

Выявленные различия общей численности и соотношения эколого-трофических групп микроорганизмов в исследованных и различающихся по содержанию элементов образцах почвы оказывали влияние на процесс разрушения полимеров. Установлено, что в более обсемененной микроорганизмами огородной почве разрушаемость полимерной основы препаратов происходит активнее, примерно в 1,5-1,7 раз активнее по сравнению с полевой почвой. Также установлено существенное влияние геометрии полимерных форм (пленки, гранулы, микрочастицы, 3D) на динамику разрушения полимерной основы форм, - наиболее активно разрушались микрочастицы, которые за 35 суток разрушились практически на 80%. Скорость разрушения пленок и гранул была ниже и сопоставимой, составив за наблюдаемый период в среднем 0,66 мг/сутки. Наименее активно происходило разрушение 3D форм при средней скорости 1,01 мг/сутки. Общим для всех типов полимерных форм является наличие лаг-фазы, это связано с процессом адгезии микроорганизмов на поверхности образцов и их адаптацией к синтезу соответствующих деполимеризующих ферментных систем, для которых субстратом является полимер.

Исследована зависимость выхода препаратов фунгицидного и гербицидного действия, а также азотного удобрения от геометрии форм, типа депонированного препарата и степени нагрузки формы с учетом активности разрушения полимерной основы. Установлено, что разработанные экспериментальные формы препаратов, депонированные в разрушаемые полимеры класса ПГА, позволяют обеспечить постепенный, без резких выбросов, и долговременный (для ТЕБ и МЕТ свыше 60 суток; азота - свыше 30 суток) выход действующих веществ в почву. Гербицид метрибузин, депонированный в П(ЗГБ) в виде пленок, микрогранул, 3D форм и микрочастиц при различной нагрузке (10, 25 и 50% от массы полимерной основы) выходит из форм с различной интенсивностью, которая может варьировать в достаточно широких пределах (от 27-35 до 90-100% (от массы полимерной основы) за исследуемый период, составляющий 60 суток. Формы фунгицида тебуконазола в виде пленок, микрогранул и 3D форм при нагрузке действующим веществом на 10 и 50% (от массы полимерной основы) позволяют существенно влиять на кинетику выхода ТЕБ, обеспечивая его ликвидацию в течение длительного периода (свыше 60 суток) с различной интенсивностью (от 40-50 до 90-100% от исходного содержания в форме). Для карбамида, депонированного в пленки или 3D (нагрузка форм азотом составила 10, 20 и 30%) и в виде гранул с наружным полимерным покрытием показано, что за наблюдаемый 30-ти суточный период его выход варьировал от 25-35 до 45-50% от исходного содержания в формах. Анализ вычисленных кинетических констант, характеризующих кинетику выхода

из форм препаратов, показал, что они варьируют в широких пределах (от 0,0014 до 0,0810) в зависимости от геометрии формы, т.е. скорость высвобождения исследуемых пестицидов поддается регулированию технологией изготовления формы.

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что выполненные исследования обеспечили разработку экспериментальных форм препаратов длительного действия. Исследованные процессы разрушения полимерной основы и выхода из форм действующих веществ гербицидного и фунгицидного действия, а также азотного удобрения показали возможность контроля этого процесса варьированием геометрией формы и величиной нагрузки. Для определения возможности влияния на скорость выхода препаратов из формы других факторов, помимо выявленных, исследовано влияние химического состава полигидроксиалканоатов (ПГА), а также возможности применения композитов на основе ПГА и материалов природного и синтетического происхождения, используемых в качестве разрушаемой основы.

Впервые исследована деградация четырех типов полимеров (ПГА); установлено влияние состава мономеров, определяющего степень кристалличности полимеров, на их разрушаемость; ПГА по активности разрушения в почве следует расположить в ряду: П(ЗГБ)/4ГБ > П(ЗГБ)/3ГГ > П(ЗГБ)/3ГВ > П(ЗГБ); средняя скорость разрушения была максимальной (1,2 мг/сутки) у П(ЗГБ)/4ГБ, имеющих самую низкую степень кристалличности. Показана возможность влияния на выход метрибузина и тебуконазола химического состава ПГА, который соответствовал динамике разрушения полимерной основы, и был наиболее активным из форм, полученных из П(ЗГБ)/4ГБ).

Для возможности влияния на разрушаемость ПГА, а также повышения доступности этих полимеров получены композиты П(ЗГБ) с полиэтиленгликолем (ПЭГ), поликапролактоном (ПКЛ), березовыми опилками, использованные для конструирования длительного 3D-форм метрибузина. Тип наполнителя, влияя на разрушаемость основы, обеспечивал различные выходы МЕГ, от 35 до 60-70% от включенного в форму. Установлено выраженное влияние состава композитной основы на динамику выхода азота из форм, - варьируя составом основы формы (ПЭГ, ПКЛ, березовые опилки), а также формируя дополнительное полимерное покрытие на формах азотного удобрения, можно регулировать выход азота в достаточно широких пределах.

Выполненные исследования обеспечили конструирование и характеризацию пионерного семейства форм сельскохозяйственных препаратов с использованием разрушаемых полигидроксиалканоатов в качестве основы. Показана состоятельность разработанных форм для длительного доставки препаратов гербицидного и фунгицидного действия (метрибузин, тебуконазол) и азотного удобрения (карбамид). Исследовано влияния различных факторов (геометрии формы, степени нагрузки, химического состава полимерной основы, типа почвы и ее микробной составляющей) на разрушаемость форм в почве и кинетику выхода действующих веществ; выявлены основные факторы, позволяющие регламентировать эти процессы.