

УДК 574.4

Долговременные системы доставки удобрений на основе полигидроксиалканоатов

С.В. Прудникова^{а,б*}, В.Ц. Цырепилов^а

^а Сибирский федеральный университет,
Россия, 660041, Красноярск, пр. Свободный, 79

^б Институт биофизики СО РАН,
Россия, 660036, Красноярск, Академгородок, 50¹

Received 10.09.2012, received in revised form 17.07.2012, accepted 24.09.2012

Разработаны и исследованы экспериментальные формы азотного удобрения (карбамида), депонированного в полимерный матрикс из разрушаемых полигидроксиалканоатов в виде пленок и объемных образцов. Использование экспериментальной формы карбамида эффективно по сравнению со свободной, так как сокращает потери удобрения, и его дозы внесения могут быть уменьшены. Динамика разрушения полимерного матрикса экспериментальных форм карбамида обеспечивает адекватный потребностям культуры отток препарата, исключая возникновение лимита по азоту для растений. Такие долговременные формы препаратов обеспечивают контролируемый и адресный выход действующего вещества в течение вегетационного периода растений, что позволяет сократить нормы внесения химических веществ.

Ключевые слова: биоразрушаемые полигидроксиалканоаты, депонирование удобрений, кинетика выхода.

Введение

Бурное развитие химии и переход сельского хозяйства на интенсивные технологии привели к применению огромного разнообразия химических веществ для повышения урожайности и борьбы с вредителями и сорняками. Эти вещества, попадая в окружающую среду, вызывают гибель полезных организмов, аккумулируются в биологических объектах и нарушают равновесие в природ-

ных экосистемах (Damalas et al., 2011). Биологическую опасность могут представлять также минеральные удобрения, без применения которых невозможно современное интенсивное земледелие. Однако не все количество удобрений, вносимых на поля для повышения урожайности, поглощается растениями; значительная его часть (до 30 % и более) накапливается в почве и вместе с талыми и дождевыми водами выносится в во-

* Corresponding author E-mail address: sveet_s@bk.ru

¹ © Siberian Federal University. All rights reserved

досмы. Возрастающие объемы применения минеральных удобрений могут нарушать природные циклы элементов, вызывать эвтрофикацию водоемов, обострять проблему повышенных концентраций нитратов в сельскохозяйственной продукции.

Новое направление исследований, ориентированное на снижение риска неконтролируемого распространения химических препаратов в биосфере, заключается в использовании биоразрушаемых полимеров в качестве платформы (основы) для депонирования и адресной доставки препаратов сельскохозяйственного назначения (Hanafi et al., 2000; Wu, 2008). Такие формы позволяют сократить объемы вносимых в почву препаратов и обеспечить их длительную и контролируемую доставку в течение вегетационного сезона. Ключевым моментом для разработки долговременных форм препаратов такого типа является наличие полимерного материала в качестве основы для депонирования действующего вещества. Известны немногочисленные примеры депонирования удобрений в матрикс из биоразрушаемых полиэфиров – полисульфона, поливинилхлорида, полистирола, этилцеллюлозы или полиакрилонитрила (Tomaszewska, 2006; Jarosiewicz, Tomaszewska, 2003; Nan et al., 2009). Полигидроксиалканоаты (ПГА) – разрушаемые полимеры микробиологического происхождения, – активно изучаемые в настоящее время, перспективны для различных сфер, включая конструирование долговременных и адресных препаратов (Волова, Шишацкая, 2011). Изученные закономерности биоразрушения ПГА в почвах и доказанное медленное течение процесса (Прудникова, Волова, 2012) позволяют приступить к использованию полимеров этого класса для конструирования долговременных форм сельскохозяйственных препаратов нового поколения.

Цель работы – исследование применения биоразрушаемых ПГА для депонирования и доставки азотного удобрения.

Материалы и методы

На примере карбамида разработаны и исследованы две формы – в виде пленочных дисков и объемных прессованных компактов, в матрикс которых был депонирован препарат. Для получения форм в виде пленок использовали растворы полимера в дихлорметане, в которые добавляли карбамид. Пленки выливали на поверхность стекла и высушивали в беспылевом боксе до полного испарения растворителя. Объемные формы получали путем смешивания порошкообразного полимера с порошком карбамида; далее порошкообразную смесь формовали прямым холодным прессованием под давлением 100 кгс/см² с использованием автоматического пресса 3887/4387 (Carver, США).

Кинетику оттока карбамида в почву и эффективность действия разработанных форм оценивали в модельных системах, которые представляли собой образцы садово-огородной почвы, помещенные в пластиковые контейнеры емкостью от 150 см³ (по три повторности на каждую экспериментальную точку). В качестве контрольного растения использовали салат листовой, сорт «Московский парниковый». Пластиковые контейнеры с почвой, засеянные семенами салата, экспонировали в фитотроне при круглосуточном освещении мощностью 100 Вт/м² по технологии выращивания, разработанной в Лаборатории управления биосинтезом фототрофов Института биофизики СО РАН (Василик и др., 2006). Одновременно с посевом семян модельных растений в почву вносили разработанные экспериментальные формы карбамида. Использовали два контроля: отрицательный (без внесения карбамида) и

положительный (внесение свободного удобрения в рекомендованных дозах, 75 кг/га). Влажность почвы поддерживали на уровне 50 %. Период наблюдения составил 28 суток. Устанавливали концентрацию аммонийного азота (согласно методу с реактивом Несслера) в почве и в дренажных водах, собираемых в специальные емкости, расположенные под контейнерами с растениями, для определения потерь азота, вносимого в почву в свободной форме, в сопоставлении с экспериментальными формами доставки азота, депонированными в полимер.

Остаточное содержание полимера в формах определяли на газовом хроматографе с масс-спектрометрическим детектором GCD Plus (Hewlett-Packard, США) после предварительного метанолиза образцов, а также регистрацией соотношения азот/углерод с использованием CN-анализатора. Для оценки эффективности действия препаратов на растения регистрировали выросшую биомассу. В ходе наблюдения периодически срезали наземную часть биомассы растений и высушивали при 105 °С в течение 24 ч. Для характеристики микробной составляющей почвы применяли общепринятые методы почвенной микробиологии. Эколого-трофические группы микроорганизмов определяли методом посева на твердые диагностические среды.

Результаты и обсуждение

Основной вопрос, на который предстояло получить ответ, насколько соответствует скорость разрушения полимерного матрикса и оттока из него в почву азота потребностям в нем растений. Результаты исследования эффективности доставки азота, депонированного в полимерный матрикс, для выращиваемой культуры салата листового (*Latuca sativa* L.) представлены на рис. 1-2.

Процесс разрушения полимерных матриксов обоих типов протекал равномерно и практически одинаково. Спустя 7-8 суток от начала наблюдения убыль массы полимера составила 35-40 % от исходной; через 12-14 суток – 50 %; к концу наблюдения (28 суток) остаточная масса полимера была на уровне 30-35 %.

Результаты измерения концентрации азота в почве показали отличия в зависимости от используемой формы доставки удобрения (рис. 1). В первое время (4-7-е сутки) концентрация азота в почве в положительном контроле резко нарастала и достигла на 7-е сутки величины 0,1 мг/г почвы (рис. 1а). Это связано с тем, что карбамид внесли в свободной форме и азот быстро аккумулировался в почве. В опыте с пленочной формой депонированного карбамида профиль выхода азота был аналогичным, однако зарегистрированный максимум концентрации азота в почве был ниже и составил 0,06 мг/г. Выход азота из прессованной формы и его накопление в почве были на уровне 0,047 мг/г, это практически в 2 раза ниже по сравнению с внесением свободного карбамида. В течение последующих 6-8 суток концентрация азота в почве сравнялась во всех вариантах. За период наблюдения из полимерных форм выход азота составил около 70 %.

На рис. 1б показана динамика концентрации азота в дренажных водах. При внесении удобрения в свободном виде и частично в виде пленок часть азота в первые 7 суток эксперимента была вынесена из системы с дренажными водами, то есть была потеряна для растений. Вынос, то есть потери азота, депонированного в полимер, были существенно ниже, особенно это относится к объемной форме.

Результаты определения влияния формы подачи азота на урожай контрольного

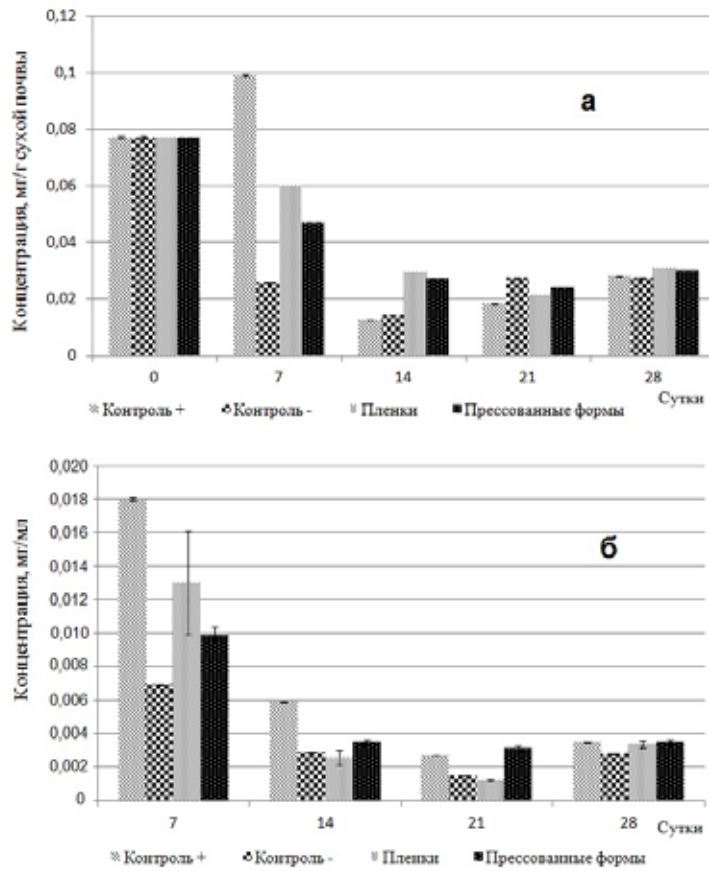


Рис. 1. Динамика концентрации аммонийного азота в почве (а) и дренажных водах (б) при различных способах доставки азота

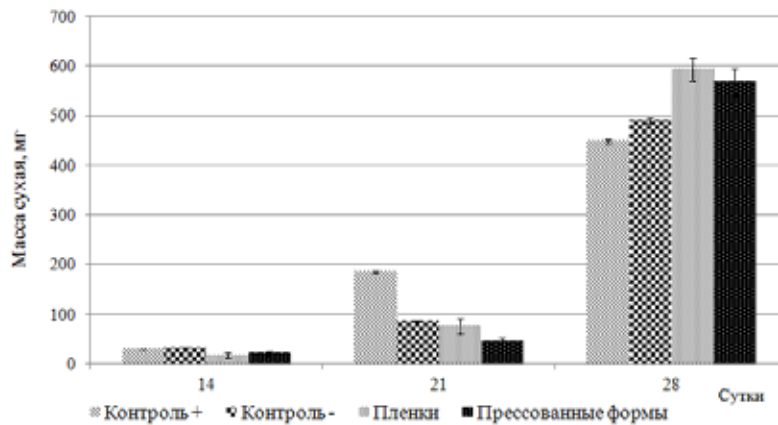


Рис. 2. Динамика прироста биомассы культуры салата при различных формах подачи азота

Таблица 1. Количественный состав микрофлоры в образцах почвы с различной формой доставки азота (28-е сутки эксперимента)

Варианты опыта	Численность микроорганизмов, КОЕ в 1 г почвы		
	Бактерии (МПА)	Актинобактерии (КАА)	Грибы (СА)
Исходная почва (начало опыта)	$(5,6 \pm 1,9) \times 10^7$	$(3,6 \pm 0,5) \times 10^5$	$(4,0 \pm 1,3) \times 10^3$
Отрицательный контроль (почва без внесения карбамида)	$(2,7 \pm 1,1) \times 10^7$	$(2,8 \pm 1,1) \times 10^5$	$(3,6 \pm 1,2) \times 10^4$
Внесение карбамида в свободной форме	$(1,4 \pm 0,5) \times 10^7$	$(4,1 \pm 0,7) \times 10^6$	$(1,8 \pm 0,6) \times 10^4$
Карбамид, депонированный в пленках	$(4,3 \pm 2,0) \times 10^9$	$(5,3 \pm 1,6) \times 10^7$	$(3,4 \pm 1,3) \times 10^4$
Карбамид, депонированный в объемных формах	$(1,4 \pm 0,5) \times 10^9$	$(1,3 \pm 0,3) \times 10^7$	$(3,1 \pm 1,3) \times 10^4$

Примечание: МПА – мясопептонный агар, КАА – крахмалоаммиачный агар, СА- сусло-агар.

растения представлены на рис. 2. В первые две недели количество сухой биомассы было близким при всех способах внесения азотного удобрения. Важно отметить, что в начальный период, несмотря на то что основная масса карбамида была связана в полимерном матриксе, отставания в росте салата не отмечено. К концу наблюдения (28-е сутки) при использовании разработанных форм карбамида биомасса выросла на 18-25 % по сравнению с контролем.

Форма внесения азота оказывала значительное влияние на структуру почвенных микробиоценозов (табл. 1). К концу периода наблюдения в контрольной почве (без карбамида) количество микроорганизмов изменилось незначительно по сравнению с исходной почвой. В варианте с внесением карбамида в свободной форме отмечено незначительное снижение численности органотрофных бактерий и микромицетов и рост количества актинобактерий по сравнению с контролем. Депонирование карбамида в ПГА-матрикс привело к достоверному увеличению численности бактерий – в 50-150 раз по сравнению с контролем. Наибольшая численность бактерий зарегистрирована в варианте при ис-

пользовании карбамида, депонированного в полимерные пленки ($(4,3 \pm 2,0) \times 10^9$ КОЕ в 1 г почвы).

Анализ соотношения эколого-трофических групп микроорганизмов в опытных и контрольных вариантах показывает характер протекания и сбалансированность процессов минерализации азот- и углеродсодержащих веществ, поступающих в почву. Исходный и контрольный (без внесения карбамида) образцы почвы характеризовались законченностью процессов деструкции органического вещества, коэффициенты минерализации составили 2,61 и 1,15, соответственно (табл. 2). При внесении свободного удобрения в почву резко возростала численность прототрофов, использующих аммонийный азот, при этом количество копиотрофов и азотфиксаторов сохранялось на контрольном уровне. Высокий коэффициент минерализации свидетельствовал об изменении соотношения C/N в сторону повышения количества азота.

При внесении в почву карбамида, депонированного в полимерный матрикс, отмечено уменьшение коэффициента минерализации до 0,07 для прессованных форм удобрения.

Таблица 2. Соотношение эколого-трофических групп почвенных микроорганизмов при различных способах доставки азота (28-е сутки эксперимента)

Варианты опыта	Численность эколого-трофических групп, КОЕ в 1 г почвы			Коэффициент минерализации
	Копиотрофы	Прототрофы	Азотфиксаторы	
Исходная почва (начало опыта)	$(5,6 \pm 1,9) \times 10^7$	$(1,4 \pm 0,2) \times 10^8$	$(4,2 \pm 0,6) \times 10^5$	2,61
Отрицательный контроль (почва без внесения карбамида)	$(2,7 \pm 1,1) \times 10^7$	$(3,1 \pm 1,0) \times 10^7$	$(3,4 \pm 1,1) \times 10^6$	1,15
Внесение карбамида в свободной форме	$(1,4 \pm 0,5) \times 10^7$	$(2,7 \pm 1,0) \times 10^8$	$(1,4 \pm 0,6) \times 10^6$	19,29
Карбамид, депонированный в пленках	$(4,3 \pm 2,0) \times 10^9$	$(9,0 \pm 0,3) \times 10^8$	$(1,8 \pm 0,6) \times 10^8$	0,21
Карбамид, депонированный в объемных формах	$(1,4 \pm 0,5) \times 10^9$	$(1,0 \pm 0,3) \times 10^8$	$(1,7 \pm 0,6) \times 10^7$	0,07

Связано это с тем, что выход азота из объемных матриц был более медленным, чем из пленок, сдвиг соотношения C/N был направлен в сторону увеличения поступления углеродсодержащего вещества в почву за счет полимера. В варианте с внесением карбамида в виде пленок сдвиг C/N был менее значительным, поскольку повышение концентрации углеродсодержащего вещества компенсировалось поступлением аммонийного азота и приводило к увеличению всех групп микроорганизмов в почве.

В целом результаты сравнительного исследования подачи азота растениям в сво-

бодном и депонированном виде показали перспективность использования резорбируемого полимерного матрикса на основе ПГА. Положительная оценка подхода заключается в том, что при использовании форм карбамида, депонированных в полимерный матрикс, сокращаются потери удобрения, то есть дозы внесения могут быть уменьшены. Динамика разрушения полимерного матрикса разработанных экспериментальных форм карбамида обеспечивает адекватный потребностям культуры отток препарата, исключая возникновение лимита роста растений азотом.

Авторы выражают благодарность с.н.с лаборатории управления биосинтезом фототрофов Института биофизики СО РАН, к.б.н. С.А. Ушаковой за предоставленную возможность проведения эксперимента в фитотроне. Работа выполнена по мегагранту (договор № 11.G34.31.0013) по постановлению Правительства РФ № 220 от 09.04.2010 для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих учёных в российских образовательных учреждениях высшего профессионального образования.

Список литературы

Василик Л.М., Костюченко С.В., Кудрявцев Н.Н., Мудрак Е.И., Овчукова С.А., Сарычев Г.С., Тихомиров А.А. (2006) Установки фотобиологического действия. В кн.: Справочная книга по светотехнике. Под ред. Ю.Б. Айзенберга. М.: Знак, с. 728-761.

Волова Т.Г., Шишацкая Е.И. (2011) Биоразрушаемые полимеры: получение, свойства, применение. Красноярск: Красноярский писатель, 300 с.

Прудникова С.В., Волова Т.Г. (2012) Экологическая роль полигидроксиалканоатов: закономерности биоразрушения в природной среде и взаимодействия с микроорганизмами. Красноярск: Красноярский писатель, 186 с.

Damalas C.A., Eleftherohorinos I.G. (2011) Pesticide exposure, safety issues, and risk assessment indicators. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 8: 1402–1419.

Han X., Chena S., Hu X. (2009) Controlled-release fertilizer encapsulated by starch/polyvinyl alcohol coating. In: *The Third Membrane Science and Technology Conference of Visegrad Countries (PERMEA)*. 240: 21-24.

Hanafi M.M., Eltaib S.M., Ahmad M.B. (2000) Physical and chemical characteristics of controlled release compound fertilizers. *Eur. Polym. J.* 36: 2081-2088.

Jarosiewicz A., Tomaszewska M. (2003) Controlled release NPK fertilizer encapsulated by polymeric membranes. *J. Agric Food Chem.* 51: 413-417.

Tomaszewska M., Jarosiewicz A. (2006) Encapsulation of mineral fertilizer by polysulfone using a spraying method. *Desalination*. 198: 346-352.

Wu C.-S. (2008) Controlled release evaluation of bacterial fertilizer using polymer composites as matrix. *Journal of Controlled Release*. 132: 42-48.

Sustained-Release Formulations of Fertilizers Based on Polyhydroxyalkanoates

Svetlana V. Prudnikova^{a,b} and Viktor Ts. Tsyrempilov^a

^a *Siberian Federal University,
79 Svobodnyi Av., Krasnoyarsk, 660041 Russia*

^b *Institute of Biophysics SB RAS,
50 Akademgorodok, Krasnoyarsk, 660036 Russia*

Experimental formulations of a nitrogen-release fertilizer (urea) loaded into the polymer matrix prepared from degradable polyhydroxyalkanoates (films and pellets) have been developed and investigated. The use of the experimental formulation of urea reduces losses of the fertilizer compared to the use of its free form, i.e. the amounts of the fertilizer applied can be decreased. Degradation kinetics of the polymer matrix of the experimental formulation of urea enables urea release that provides the crops with sufficient amounts of nitrogen. Using these sustained release formulations, one can attain controlled targeted release of fertilizers throughout the plant growing season and reduce the amounts of the fertilizers applied.

Keywords: biodegradable polyhydroxyalkanoates, fertilizer loading, release kinetics.
