УДК 632.955, 691.175

ГРАНУЛЫ НА ОСНОВЕ ПОЛИКАПРОЛАКТОНА И БЕНТОНИТА С ИЗОТИОЦИАНАТАМИ ДЛЯ БОРЬБЫ С КАРТОФЕЛЬНОЙ НЕМАТОДОЙ

[1]Заболотная К.Е., [1]Ертилецкая Н.Л., [1]Позднякова А.В., [1]Сырцов С.Н., [1]Брилькова Е.В., [1,2]Бояндин А.Н., [1]Суханова А.А.*

[1]Сибирский государственный университет науки и технологий им. М.Ф. Решетнева
[2]Институт биофизики, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук»

**shumilova.ann@mail.ru*

***Аннотация**. В статье представлены исследования по получению гранул, в качестве перспективного носителя для медленного высвобождения изотиоцианатов (ИТЦ), на основе поликапролактона (ПКЛ) и бентонита в соотношении 75/25 и 50/50. По данным ГХ-МС и ИК-Фурье-спектроскопии, установлено, что включение ИТЦ в гранулах увеличивается с увеличением концентрации глины и варьирует в зависимости от вида ИТЦ. Доказано, что включение ИТЦ в гранулы ПКЛ/бентонит продлевает устойчивость ИТЦ в почве до 45 дней и предотвращает их преждевременный гидролиз.*

Ключевые слова: поли(ε-капролактон), бентонит, экструзия, гранулы, изотиоцианаты, биодеградация

GRANULES BASED ON POLYCAPROLACTONE AND BENTONITE WITH ISOTHIOCYANATES FOR POTATO CYST NEMATODE CONTROL

[1]Syrtsov S.N., [1]Zabolotnaya K.E., [1]Ertiletskaya N.L., [1]Pozdnyakova A.V., [1]Brilkova E.V., [1,2]Boyandin A.N., [1]Sukhanova A.A.

[1]M.F. Reshetnev Siberian State University of Science and Technology
[2]Institute of Biophysics, Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences»

***Abstract.** In this article, the granules based on polycaprolactone (PCL) and bentonite in the ratio of 75/25 and 50/50 were obtained as a promising carrier for long-term release of isothiocyanates (ITC). According to GC-MS and FTIR spectroscopy, it was found that concentration of ITC in granules increases with increase in clay ratio and depends on the ITC species. It is observed that the inclusion of ITC in PCL/bentonite granules increases the persistence of ITCs in the soil for up to 45 days and prevents their premature hydrolysis.*

Keywords: poly(ε-caprolactone), bentonite, extrusion, granules, isothiocyanates, biodegradation

Введение

Растущий спрос на устойчивые методы ведения сельского хозяйства вызвал значительный интерес к разработке инновационных экологичных препаратов, в том числе на основе биоразлагаемых полимерных материалов [1]. Среди биоразлагаемых полимеров особое внимание в последние годы привлекает полимер ε-капроновой кислоты – поли(ε-капролактон) (ПКЛ). ПКЛ используется в пищевой промышленности как компонент «умной» упаковки [2] и в сельском хозяйстве в качестве мульчирующих пленок и микрочастиц для доставки агрохимикатов [3]. Однако высокая стоимость ПКЛ по сравнению с обычными небиоразлагаемыми пластиками, его гидрофобность и медленная биодеградация ограничивают широкое применение материала. Для решения этих проблем ПКЛ часто смешивают с другими полимерами и соединениями, такими как крахмал [4], глины [5], циклодекстрины [6] и целлюлоза [7]. Это

придает полученным композитам экологичность, экономическую эффективность и повышает скорость биоразложения.

В наших предыдущих исследованиях мы продемонстрировали, что смешивание ПКЛ с ММТ путем литья из раствора и экструзии расплава приводит к повышению температуры кристаллизации полимера, что в свою очередь, снижают температуру обработки и термической температурной деградации независимо от метода приготовления композита, а также увеличивает скорость его деградации [8].

Относительно низкая температура плавления ПКЛ позволяет использовать его в качестве носителя для многих биологически активных веществ, при этом экструзию осуществляют при температуре ниже температуры их термической деградации. Изотиоцианаты (ИТЦ), являясь продуктами гидролиза глюкозинолатов, обнаружены в растениях порядка Capparales, главным образом рода *Brassica*, в частности в *B. napus* (рапс) и *B. juncea* (индийская горчица) [9, 10].

В силу нематицидной активности, демонстрируемой в отношении *Globodera rostochiensis* [11], изотиоцианаты представляют интерес в контексте разработки средств защиты растений. Однако из-за высокой гидрофобности и летучести ИТЦ быстро теряют свою активность, что ограничивает их практическое применение. Прямое смешивание ИТЦ с ПКЛ ограничено, так как наличие гидрофобных CH_2-единиц в качестве повторяющегося фрагмента в ПКЛ существенно затрудняет инкапсуляцию, а ограниченная адсорбционная способность ПКЛ также делает его неэффективным в качестве носителя.

Таким образом, смешивание ПКЛ с функциональными веществами, такими как глины, обладающими хорошими адсорбционными характеристиками и имеющими ряд химически активных функциональных групп, позволяет увеличить активные адсорбционные центры и экономическую эффективность таких композитов.

Целью данной работы являлось получение методом экструзии гранул на основе ПКЛ с бентонитом и изотиоцианатами (аллилизотиоцианатом (АИТЦ), бензилизотиоцианатом (БИТЦ) и 2-фенилэтилизотиоцианатом (ФЭИТЦ)), обладающих пролонгированным действием.

Методы работы

В качестве биоразлагаемого материала для получения композитных гранул использовали ПКЛ («Sigma Aldrich», США) со следующими характеристиками: Mw = 80 кДа, Cx = 52 %, Tm = 90 °C. Гранулы на основе ПКЛ с введенным наполнителем с соотношением полимер/наполнитель 75/25 и 50/50 получали с использованием мини-экструдера («Bestfilament», Россия) при температуре 110 °C и скорости вращения шнека 24 об/мин. В качестве наполнителя использовали бентонит (формовочная глина бентонитовая марки ГОСТ 28177-89) с содержанием ММТ 70 %. Перед экструзией изотиционаты (аллилизотиоцианат (АИТЦ), бензилизотиоциан (БИТЦ) и 2-фенилэтилизотиоцианат (ФЭИТЦ) (Zoranchem, Китай)) инкасулировали в бентонит. Для этого 5 мг выбранного изотиоционата и 25 мг бентонита в соотношении 1:5 добавляли в раствор, содержащий 10 г Твин 80 и 150 мл метанола. Смесь перемешивали на магнитной мешалке до полной гомогенизации при 800 об/мин. Затем смесь высушивалась при 60 °C в течение 8 часов в сушильном шкафу. Содержание изотиционатов в полученных гранулах определяли методом ГХ-МС с использованием газового хроматографа Agilent 6890N, интегрированного с масс-спектрометром Agilent 5975C, оснащенного колонкой Agilent VF-200ms (Agilent Technologies, США).

Структуру и свойства гранул исследовали инфракрасной Фурье-спектроскопией с использованием ИК-Фурье-спектрометра Nicolet iS10 («Thermo Scientific», США) и приставки ITX Smart («Thermo Scientific», США) с алмазным кристаллом методом нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО) и дифференциально сканирующей калориметрией DSC25 (TA Instruments, США) в стандартизированных алюминиевых тиглях в атмосфере чистого N_2 при скорости потока 70 мл/мин. Деградацию гранул исследовали в лабораторных условиях в серой лесной почве. Контейнеры инкубировали при температуре 27 °C, влажность поддерживалась на уровне около 40 % регулярным увлажнением водопроводной водой и рыхлением.

Относительную остаточную массу $\Delta m_{n\%}$ гранул определяли по формуле

$$\Delta m_{n\backslash\%} = \frac{m_n}{m_0} \cdot 100 \backslash \%, \quad (1)$$

где m_n – масса экспериментальной композитной гранулы, взятой из почвы в определенный момент времени; m_0 – исходная масса гранулы до инкубации в почве. Выход изотиоцианатов в почву из гранул исследовали с применением ГХ-МС.

Характеристика гранул

Получены гранулы на основе ПКЛ и бентонита длиной 10±3 мм (масса 20 мг), диаметром 1,5–2,0 мм с различным содержанием изотиоцианатов (ИТЦ). Гранулы всех составов имели гладкую, блестящую, однородную поверхность и коричневый цвет различной интенсивности с мелкими темными включениями бентонита. Использованный в исследовании экструзионный метод получения гранул достаточно универсальный и масштабируемый, однако он предполагает температурное воздействие на исходные материалы, что приводит к их испарению или деградации. В связи с этим после получения гранул определили концентрацию изотиоцианатов в полимерных гранулах для оценки итогового его реального содержания в носителе (*таблица 1*).

Таблица 1 – Концентрация ИТЦ в полученных гранулах

Образец	Соотношение ПКЛ и бентонита	Количество ИТЦ в комплексе, мг/мг	Количество ИТЦ в гранулах, мг/мг
ПКЛ/(АИТЦ/бентонит)	75/25	0,015±	0,00030±
	50/50		0,00024±
ПКЛ/(БИТЦ/бентонит)	75/25	0,17±	0,002±
	50/50		0,11±
ПКЛ/(ФЭИТЦ/бентонит)	75/25	0,08±	0,033±
	50/50		0,2880±

Установлено, что увеличение доли глинистого наполнителя в грануле, независимо от типа ИТЦ, приводит к более высокой эффективности включения ИТЦ. Однако ключевую роль в получении таких экологически чистых смесей играет сама природа ИТЦ. Благодаря тому, что ФЭИТЦ имеет более высокую молекулярную массу и, как следствие, более высокую температуру кипения (140 °С), он в меньшей степени испаряется при экструзии, в отличие от легколетучего АИТЦ, что отражается в более высоких концентрациях ФЭИТЦ в полученных гранулах по сравнению с другими ИТЦ.

ИК-спектроскопия показала, что в ИК-спектре гранул ПКЛ/(ИТЦ/бентонит) присутствуют как связи, характерные для чистого ПКЛ (-CH при 3000 $см^{-1}$, C=O при 1800-1700 $см^{-1}$, -O-C-O при 1100 $см^{-1}$), так и связи, характерные для бентонита (C–O при 1631 $см^{-1}$, Si–O–Si при 1048 $см^{-1}$) (*рисунок 1*). Включение ИТЦ в гранулы ПКЛ с бентонитом приводит к образованию областей в ИК-спектре, ответственных за валентные асимметричные колебания изотиоцианатной группы N=C=S (2050–2190 $см^{-1}$), и образованию двух небольших широких пиков, что подтверждает включение изотиоцианатов в гранулы без образования дополнительных новых связей.

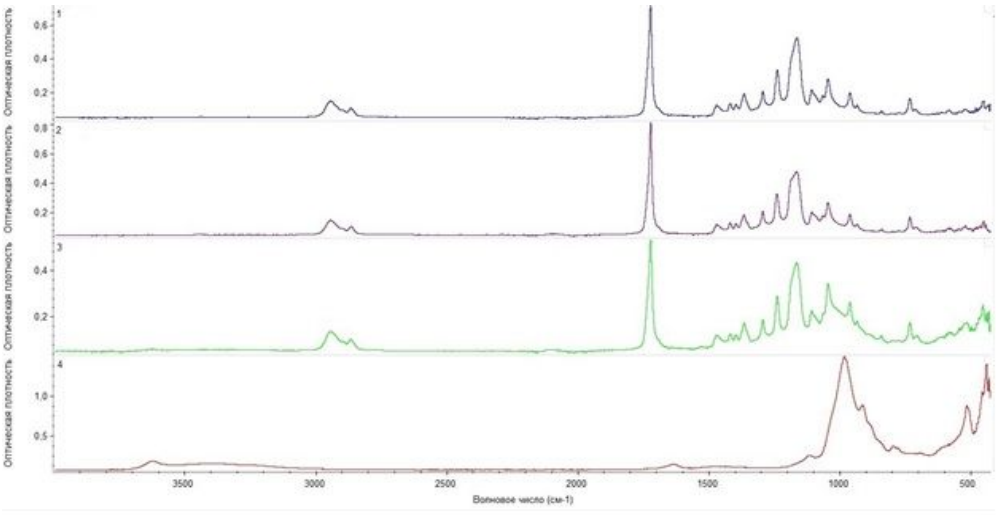

Рисунок 1 – ИК-спектр гранул ПКЛ/(АИТЦ/бентонит) 50/50 (1),

ПКЛ/(БИТЦ/бентонит) 50/50 (2), ПКЛ/(ФЭИТЦ/бентонит) 50/50 (3), чисты бентонит (4)

По результатам исследования температурных характеристик гранул установлено, что в зависимости от ИТЦ и включения бентонита в состав гранул изменяются $Т_{кр}$ и $Т_{пл\ ПКЛ}$ (*рисунок 2*). $Т_{кр}$ гранул

ПКЛ/(АИТЦ/бентонит) изменяется незначительно, а включение в состав гранул БИТЦ и ФЭИТЦ приводит к снижению $T_{кр}$ ПКЛ до 30 °С. Следует отметить, что $T_{кр}$ для гранул ПКЛ/(ИТЦ/бентонит) 50/50 ниже, чем $T_{кр}$ для гранул ПКЛ/(ИТЦ/бентонит) 75/25. Включение ИТЦ и глины также приводит к снижению $T_{пл}$ ПКЛ с 60 до 53–56 °С.

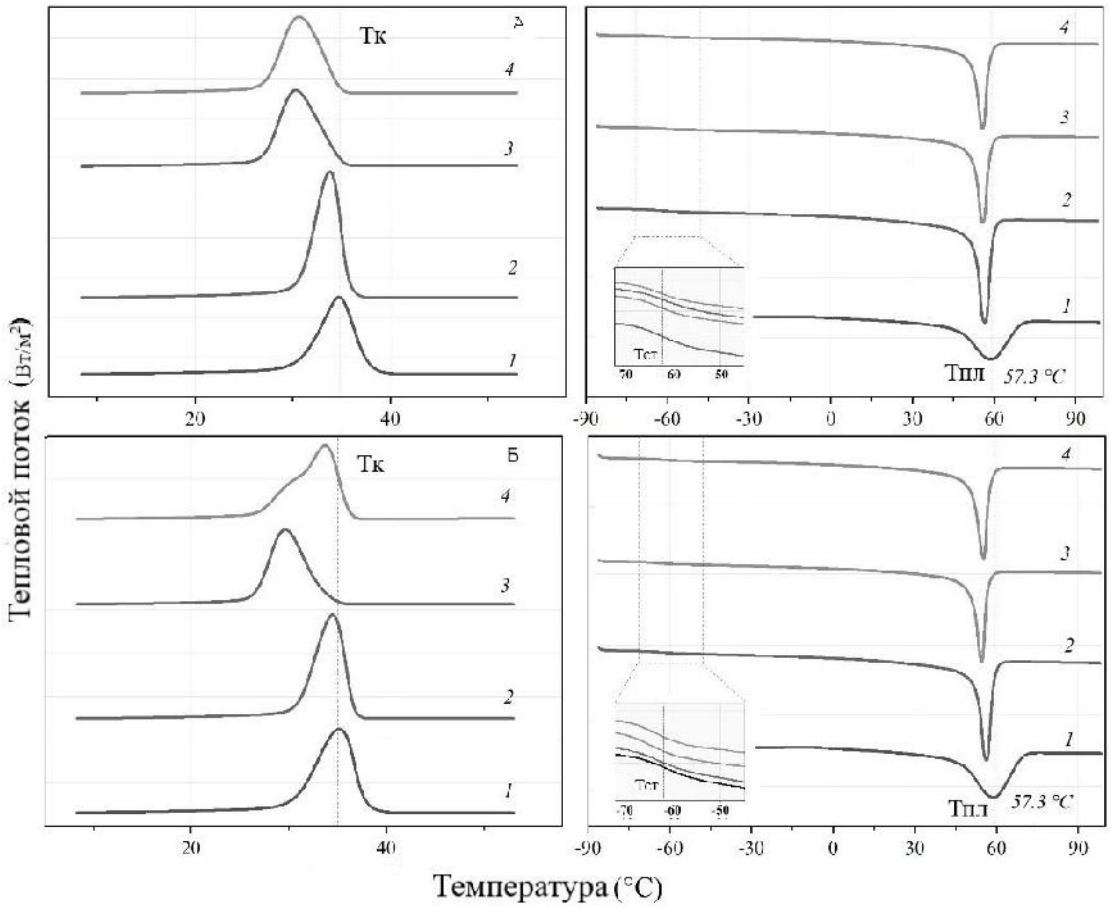

Рисунок 2 – ДСК-термограммы гранул на основе ПКЛ (А1, Б1) и ПКЛ/(ИТЦ/бентонит):
А – ПКЛ/(АИТЦ/бентонит) 75/25/ (2), ПКЛ/(БИТЦ/бентонит) 75/25 (3), ПКЛ/(ПЭИТЦ/бентонит) 75/25/ (4);
В – ПКЛ/(АИТЦ/бентонит) 50/50 (2), ПКЛ/(БИТЦ/бентонит) 50/50 (3), ПКЛ/(ПЭИТЦ/бентонит) 50/50 (4)

Высвобождение ИТЦ из гранул при их инкубации в почве происходит относительно медленно, что коррелирует с относительно низкой убылью массы гранул и свидетельствует об их низкой биодеградации в отличие от быстрого разрушения и потери концентрации чистых ИТЦ в почве (*рисунок 3*). За 45 дней инкубирования гранул в почве убыль массы для гранул с включением бентонита 50 % составила 8 %, для гранул с включением бентонита 25 %–14 %, и не зависела от вида ИТЦ. Динамика высвобождения ИТЦ зависела как от вида изотиоцианата, так и от доли бентонита в гранулах. Для АИТЦ наблюдалось два пика концентраций (*рисунок 4*). Первый максимум регистрировался через 14 дней с момента экспозиции гранул, при этом его концентрация в почве не превышала 5 нг/г. Затем, после снижения примерно на 30 суток, следовало повторное возрастание почвенных концентраций, достигшее 7 нг/г для гранул с 50 %-ным содержанием бентонита и 4 нг/г – с его 25 %-ным содержанием. Такая динамика, вероятно, обусловлена быстрым выходом вещества из поверхностных слоёв и затруднённым из глубины гранул.

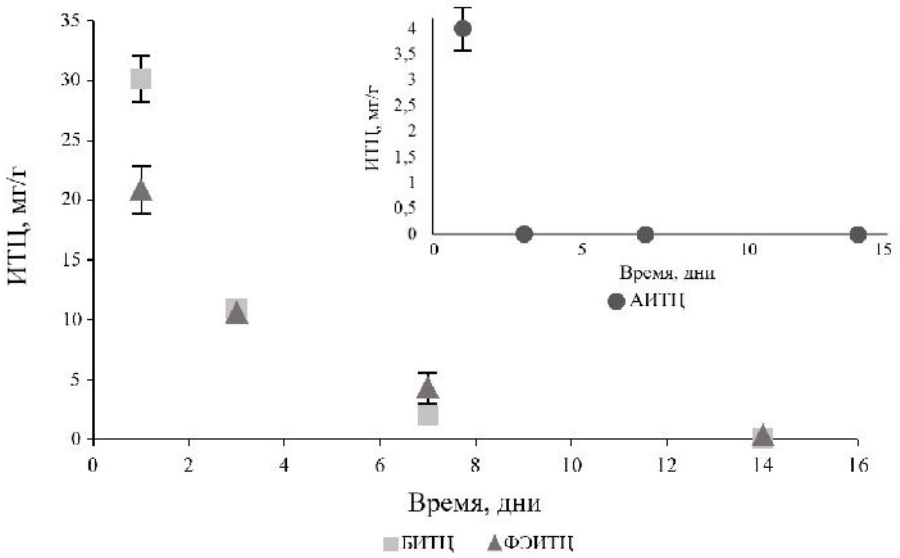

Рисунок 3 – Профили чистых ИТЦ в почве в течение 45 дней

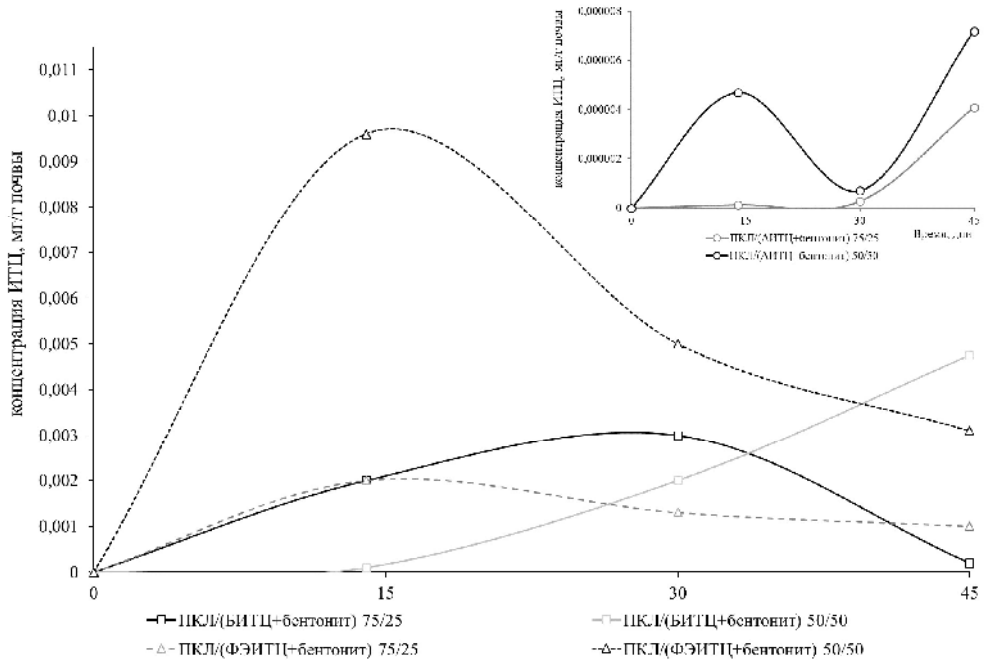

Рисунок 4 – Профили высвобождения ИТЦ из гранул в соотношении ПКЛ и бентонит 75/25 и 50/50 с ИТЦ: ПКЛ/(БИТЦ+бентонит), ПКЛ/(ФЭИТЦ+бентонит), ПКЛ/(АИТЦ+бентонит) в почву в течение 45 дней

В случае гранул с БИТЦ и ФЭИТЦ, концентрации действующих веществ в почве были значительно выше, что коррелирует с их более эффективным включением в гранулы *(таблица 1).* Максимальные концентрации ФЭИТЦ в почве регистрировались на 14-е сутки и составляли 2 и 9,6 мкг/г для гранул с содержанием бентонита 25 и 50 % соответственно (*рисунок 4*). В дальнейшем к 45-му дню эксперимента отмечалось плавное снижение концентраций соответственно до 1 и 4 мкг/г. Для БИТЦ отмечался более пролонгированный выход. В частности, при 25 %-ном содержании комплексов в гранулах максимальное содержание активного вещества в почве отмечалось на 30-е сутки, и составило при этом около 3 мкг/г. В случае содержания комплексов 50 % концентрация БИТЦ продолжала увеличиваться до конца эксперимента (45 дней), достигнув 5 мкг/г.

Таким образом, в результате исследования подтвержден пролонгированный выход активных веществ нематицидного действия (изотиоцианатов) из разработанных композитных гранул, динамика которого определяется как соотношением полимер/наполнитель, так и выбором конкретного изотиоцианата.

Заключение

В работе проведен сравнительный анализ свойств экструзионных гранул на основе поликапролактона с бентонитом. По данным СЭМ, ИК-Фурье, ДСК и биодеградации гранул доказано, что включение наполнителя приводит к снижению температуры плавления ПКЛ и способствует его деградации. В качестве носителя изотиоцианатов (АИТЦ, БИТЦ и ФЭИТЦ) выбрана смесь ПКЛ/бентонит. Максимальное содержание активного компонента в гранулах с АИТЦ составило 0,24 мг/г, с БИТЦ 3,3 мг/г, с ФЭИТЦ 14,9 мг/г. Доказано, что полученные композитные смеси демонстрируют значительный пролонгированный эффект высвобождения активных компонентов в почву в течение 45 суток по сравнению с чистыми изотиоцианатами (14 суток). Стоит отметить, что полученные гранулы могут быть использованы в качестве пролонгированных составов для борьбы с почвенными нематодами, а также могут быть использованы для депонирования биологически активных веществ против грибов и бактерий, вызывающих болезни сельскохозяйственных культур.

Благодарность: работа выполнена при финансовой поддержке гранта РНФ «Разработка экологичных систем на основе биоразрушаемых полимеров с депонированными биологически активными веществами для предотвращения болезней картофеля» № 23-16-00184.

Библиография

1. Pérez-Lucas G., Vela N., Aatik A.El., Navarro S. Environmental Risk of Groundwater Pollution by Pesticide Leaching through the Soil Profile // Intech Open. 2018. N 82418. P. 1–27.

2. Thakur M., Majid I., Hussain S., Nanda V. Poly-(ε-caprolactone): A potential polymer for biodegradable food packaging applications // Packaging Technology and Science. 2021. V. 34. P. 449–461.

3. Nevoralová M., Koutný M., Ujčić A., Starý Z., Šerá J., Vlková H., Kruliš Z. Structure characterization and biodegradation rate of poly (ε-caprolactone)/starch blends // Frontiers in Materials. 2020. V. 7. P. 141.

4. Mariani D., Neto A.P.V., da Silva J.P., Cardoso E.J., Esposito E., Innocentini-Mei L.H. Mineralization of poly (ε-caprolactone)/adipate modified starch blend in agricultural soil // Journal of Polymers and the Environment. 2007. V. 15. P. 19–24.

5. Ramos R.M.A., Aquino R.R., Tolentino M.S., Eleazar E.G., Basilia B.A. Synthesis and characterization of polycaprolactone (Pcl)/organo-montmorillonite (o-mmt) blendvia solvent casting // Materials Science Forum. 2020. V. 998. P. 255–260.

6. Hu S., Peng F., Wang C., Lei X., Ruan C., Wang W., Zeng K. Preparation and application of polycaprolactone/β-cyclodextrin/gamma-Decalactone nanofiber composites in citrus postharvest diseases // Food Chemistry. 2025. V. 463, N 4. P. 141476.

7. Chen J., Huang Y., Deng L., Jiang H., Yang Z., Yang R., Wu D. Preparation and research of PCL/cellulose composites: Cellulose derived from agricultural wastes // International Journal of Biological Macromolecules. 2023. V. 235. P. 123785.

8. Sukhanova A., Boyandin A., Ertiletskaya N., Shalygina T., Shabanov A., Vasiliev A., Obvertkin I., Brott V., Prokopchuk Y., Samoilo A. Composite Polymer Granules Based on Poly-ε-Caprolactone and Montmorillonite Prepared by Solution-Casting and Melt Extrusion // Polymers. 2023. V. 15. P. 4099.

9. Andini S. Antimicrobial isothiocyanates from Brassicaceae glucosinolates: Analysis, reactivity, and quantitative structure-activity relationships: Dissertation, Wageningen University and Research, 2020. 208 p.

10. Shakour Z.T., Shehab N.G., Gomaa A.S., Wessjohann L.A., Farag M.A. Metabolic and biotransformation effects on dietary glucosinolates, their bioavailability, catabolism and biological effects in different organisms // Biotechnology Advances. 2022. V. 54. P. 107784.

11. Ntalli N., Caboni P. A review of isothiocyanates biofumigation activity on plant parasitic nematodes // Phytochemistry Reviews. 2017. V. 16. P. 827–834.