

カプセル化殺虫剤の開発とその特性評価

吉田昌弘^{1*}、幡手泰雄¹、武井孝行²、塩盛弘一郎³、清山史朗⁴

キーワード

マイクロカプセル、環境分解ポリマー、殺虫剤、徐放制御、W/O/W エマルション

要旨

環境保全型農業に即した製剤化技術として、農薬のマイクロカプセル製剤が研究されている。本研究では W/O/W エマルションの液中乾燥法および含浸を利用して水溶性殺虫剤アセタミプリドを内包したマイクロカプセル製剤を調製した。評価項目として、調製したマイクロカプセルのアセタミプリド含有量測定および比表面積測定、マイクロカプセルに内包されたアセタミプリドの水における徐放実験、アセタミプリドのカプセル透過係数の算出を行い、分散相容積相分率 ϕ の影響を調査した。本研究ではアセタミプリドを高含有率で内包するマイクロカプセルの調製に成功した。調製したマイクロカプセルは多孔質構造を有し、分散相容積相分率 ϕ の増加に伴ってより多孔質となった。また、分散相容積相分率 ϕ の増加は含有率および比表面積の増加を伴い、 $\phi = 0.5$ のとき含有率約 12% および比表面積 $7.6 \text{ m}^2/\text{g}$ で最大であった。徐放実験結果より算出した透過係数 $k_p [\text{m}/\text{s}]$ は分散相容積相分率 ϕ の影響を受けて変化することが確認された。

1. 緒言

農薬は農作物などを病虫害・雑草などから保護する、あるいは作物自体の育成を調節することによる農業生産の安定化、生産物の品質向上、農作業の省力化および能率化を図るために用いる重要な農業資材である。農薬は最大限の効力を示すために最適使用方法および使用濃度により農作物へ直接散布されている。しかし、外環境による分解や蒸発、地下浸透で有効成分の持続が困難となり効力が示されない場合がある。これ

が高濃度分布や過剰散布につながり、人体・農作物・環境への薬害問題を引き起こすと懸念されている¹⁻³⁾。

このような背景から近年は環境保全型農業の推進が図られるようになった。環境保全型農業のタイプとしては次のような事例が挙げられる。

1. 土作り等既存の技術を活用して可能な範囲で化学肥料、農薬を削減すること等により環境負荷を軽減。
2. リサイクルの推進、施肥・防除基準の見直し、新技術・資材の活用の推進等により環境負荷を軽減。

農薬の過剰散布により引き起こされる諸問題を解決し、環境保全型農業を推進するために、農薬のマイクロカプセル製剤化が研究されている⁴⁻⁶⁾。農薬のマイクロカプセル製剤の概念図を図1に示す。

マイクロカプセル化の利点としては、農薬が外界から保護されるため外環境の変化による有効成分の変成の軽減が可能となり、さらに膜の材質、厚さを調節することにより農薬の放出量が自由にコントロールすることである。さらに、カプセル壁材として環境分解ポリマーを用いることで環境負荷軽減化が可能となる。また、本カプセル化技術確立により従来の農薬の散布

著者連絡先

¹ 鹿児島大学工学部応用化学工学科, 〒890-0065 鹿児島市郡元

1-21-40, *E-mail: myoshida@cen.kagoshima-u.ac.jp

² 九州大学大学院工学研究院化学工学科, 〒819-0395 福岡市西
区元岡 744

³ 宮崎大学工学部物質環境学科, 〒889-2192 宮崎県宮崎市学園
木花台西 1-1

⁴ 都城工業高等専門学校 物質工学科, 〒885-8567 宮崎県都城市
吉尾町 473-1

回数の軽減化や作業の省力化が実現できるものと考えられる。

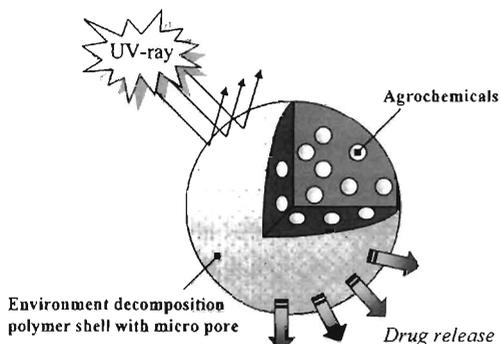


図1 農業マイクロカプセル概念図

本研究ではモデル農薬としてネオニコチノイド系の水溶性殺虫剤アセタミプリドを用いる^{7,8)}。アセタミプリドの構造式を図2に示す。

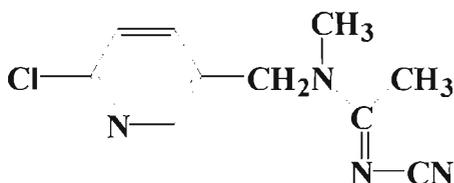


図2 アセタミプリド分子構造

アセタミプリドは結晶性が高く常温で針状結晶性固体として存在し、水溶性(溶解度 4, 250ppm)という特徴を有する。現在市販されている粒剤はアセタミプリド原体と支持体を混練し乾燥させたものだが、この粒剤の薬剤含有率はアセタミプリドの特性のために約 2%に留まっている。アセタミプリドのマイクロカプセル化において、薬剤含有率の向上を達成できれば製剤としても製剤化技術においても非常に有用である。

本研究では水溶性殺虫剤アセタミプリドを高含有量で内包した環境保全型マイクロカプセル化農薬製剤の開発を目的とする。具体的には、W/O/W エマルジョンの液中乾燥法を用いてマイクロカプセルの調製を行い、含浸によりアセタミプリドをカプセルに内包した^{9,10)}。含浸操作を採用することで、カプセル調製時の芯物質漏洩による含有率の低下を回避できる。また、含浸液

のリサイクルによりコスト面でも有効である。マイクロカプセルは W/O/W エマルジョン法により多孔質構造を形成する^{11,12)}。カプセル内部に細孔を有することで高結晶性のアセタミプリドの存在領域を確保する。また、微細孔は含浸および徐放の際に有効であると考えられる。本稿では、アセタミプリドを内包するマイクロカプセルの特性評価(含有量測定、比表面積測定、徐放実験、透過係数の算出等)を行った結果を報告する。

2. 実験

2.1 環境分解ポリマー骨格からなるマイクロカプセル調製

マイクロカプセルを W/O/W エマルジョンの液中乾燥法を用いて調製した。調製手順を図3に示す。壁材である環境分解ポリマーのPLA(2.5g)およびPCL(2.5g)を希釈溶媒であるジクロロメタン(50ml)に超音波照射下(BRANSON SONIFIER 450)で溶解させ、その後界面活性剤であるソルビタンモノオレエート(0.07g)を添加し溶解させたものを有機相とした。内水相(10, 12.5, 25ml)および外水相(200ml)はともに 0.5wt%ゼラチン水溶液とした。ここで、有機相体積に対する内水相体積の比を分散相容積相分率 ϕ と定義し、内水相が 10, 12.5, 25ml のときの ϕ の値をそれぞれ 0.2, 0.25, 0.5とした(表1)。

表1 分散相容積相分率 ϕ

	Volume of internal aqueous phase[ml]	Volume of organic phase[ml]	Volume ratio ϕ
(a)	10	50	0.2
(b)	12.5	50	0.25
(c)	25	50	0.5

有機相と内水相を混合した後、ホモジナイザーを用い6000rpmで10分間高速攪拌することでW/O エマルジョンを得た。その後、1000ml 容ジャケット付三口セパラブルフラスコ内の外水相に150rpmで攪拌しながらW/O エマルジョンを添加した。攪拌にはテフロン被覆攪拌棒を用い、窒素雰囲気下で25°C、1時間攪拌することでW/O/W エマルジョンを形成した。その後、窒素の流入を止めて反応容器内を35°Cまで昇温し、溶媒回収機を用いて700hPaに減圧することで溶媒であるジクロロメタンの除去を3時間行い、マイクロカプセルを形

成した。溶媒除去後、外水相に対する濃度が0.5g/lとなるように反応容器内にペパインを添加してゼラチンを分解した。その後、マイクロカプセルを桐山ロート(ろ紙 No. 5B)でろ過し、蒸留水でのかけ流し洗浄を行った。回収したマイクロカプセルはデシケーター中で真空乾燥を行った。

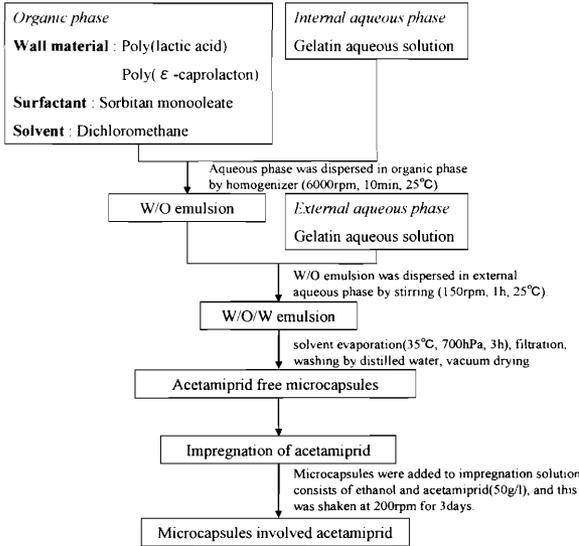


図3 マイクロカプセル調製スキーム

2.2 マイクロカプセルへの殺虫剤含浸操作

水溶性殺虫剤であるアセタミプリドをエタノールに50g/lで溶解させたものを含浸液とした。含浸液30mlに調製したマイクロカプセル1gを加え、メカニカルシェーカー(Tuchi ALMIGHTY SHAKER AS-1)にて200rpmで3日間高速振とうさせることでアセタミプリドをマイクロカプセルに含浸させた。含浸操作後、マイクロカプセルを桐山ロート(ろ紙 No. 5B)でろ過し、蒸留水でのかけ流し洗浄を行った。回収したマイクロカプセルはデシケーター内で真空乾燥を行った。

2.3 マイクロカプセルの粒度分布測定

調製したマイクロカプセルの粒度分布をレーザー回折/散乱式粒度分布測定装置(HORIBA LA-920)を用いて測定した。分散安定剤としてポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノオレエートを用いた。

2.4 アセタミプリド含有量測定

含浸させたマイクロカプセル0.1gを20ml容メスフラスコに入れアセトニトリルで定容して超音波浴槽に入れ、30分間超音波を照射することでマイクロカプセルに内包されたアセタミプリドをアセトニトリルに抽出した。この溶液をメンブレンフィルターでろ過し、さらにアセトニトリルで5倍に希釈した溶液を測定サンプルとした。測定サンプルを高速液体クロマトグラフィー(東ソー HPLC システム UV-8020)を用いて分析し、マイクロカプセル中のアセタミプリド含有量[mg/g-MC]及び含有率(マイクロカプセル中のアセタミプリド含有割合)[%]を算出した。カラムは東ソー TSKgel ODS-80Tsを用い、測定波長246nm、測定温度32°Cにて分析を行った。溶離液はアセトニトリル/酢酸緩衝液(pH4.5)=1/1(v/v)を用い、流速は1ml/minとした。

2.5 マイクロカプセルの比表面積測定

調製したマイクロカプセルの比表面積を比表面積測定装置(SHIMADZU フローソープIII2310)を用いて測定した。

2.6 アセタミプリド徐放実験

含浸させたマイクロカプセル0.1gと0.02wt%ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノオレエート水溶液500mlを共栓付三角フラスコに入れ、これを振とう恒温槽(30°C、60rpm)中で振とうしてマイクロカプセル中のアセタミプリドの水の中での徐放を行った。所定の時間毎に水溶液のサンプリングを行い、これをUV/VIS分光光度計(SHIMADZU UV-1650PC)を用いて測定波長245nmで分析し、徐放率を求めた。徐放率は以下の式により算出した。

$$R_c = \frac{Q_{UV}}{Q_c} \times 100 \quad (1)$$

R_c : 徐放率(マイクロカプセルから徐放媒体に溶出したアセタミプリドの割合)[%]

Q_{UV} : UV/VIS分光光度計の分析結果より換算したアセタミプリドの重量[g]

Q_c : マイクロカプセル1g中のアセタミプリドの含有量

[g/g-MC]

また、市販のアセタミプリト粒剤(含有率 2%)の徐放実験も同様の手順で行った。

2.7 透過係数の算出および徐放能の評価

徐放時間 24 時間までの徐放結果よりマイクロカプセルの透過係数 k_p [m/s] を求め、徐放能の評価を行った。透過係数の算出には以下の式を用いた。

$$\ln \frac{C_\infty - C}{C_\infty - C_0} = -\frac{6 \cdot k_p}{\varepsilon \cdot d_p} \cdot t \quad (2)$$

C_0 : 時間ゼロでの徐放液濃度

C : 時間 t での徐放液濃度

C_∞ : 時間 ∞ での徐放液濃度

d_p : マイクロカプセルの平均粒径

k_p : 透過係数

ε : マイクロカプセル中のアセタミプリドのモル分率

3. 結果及び考察

3.1 マイクロカプセル形態観察

分散相容積相分率 $\phi=0.5$ の条件で調製したマイクロカプセル外観の光学顕微鏡写真を図 4 (i) に示す。カプセル表面は滑らかでなく、内部がスポンジ状であることがうかがえる。このマイクロカプセル表面形態の走査型電子顕微鏡(SEM)写真を図 4 (ii) に示す。カプセル表面の細孔の存在が確認できる。マイクロカプセルの断面図の SEM 写真を図 5 に示す。調製したカプセルは全て多孔質構造であり、特に ϕ の増加に伴ってカプセルの内部構造がより多孔質になることが確認できた。

図 6 で示したカプセルの平均粒径が ϕ の影響を受けずにほぼ一定であることから、 ϕ はカプセルの内部構造のみに影響すると考えられる。

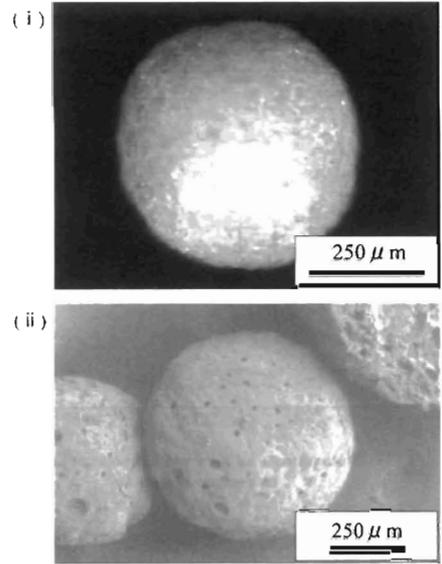


図4 マイクロカプセル形態観察: (i) 実体顕微鏡写真, (ii) SEM 写真

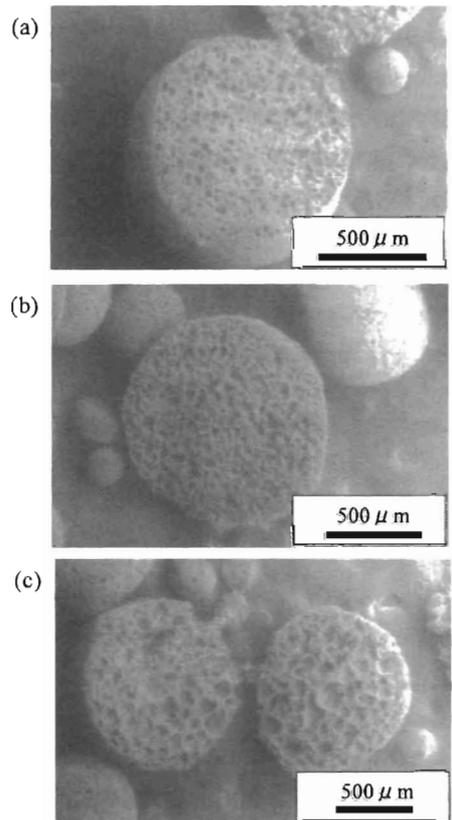


図5 分散相容積相分率 ϕ を変化させたマイクロカプセル形態観察 (断面): (a) $\phi=0.2$, (b) $\phi=0.25$, (c) $\phi=0.5$

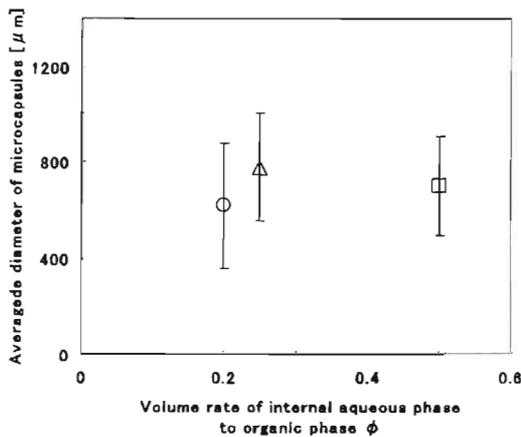


図6 マイクロカプセル粒径と分散相容積相分率 ϕ との関係

3.2 含有量測定および比表面積測定

本研究ではカプセル内部に芯物質を内包させるために含浸という手法を用いている。含浸液の溶媒にはポリマーとなじみの良いエタノールを用いている。しかし、カプセル内部まで含浸液が十分に浸透し、且つカプセル内外のアセタミプリド濃度が平衡に達するにはいくらかの操作時間が必要と考えられる。この必要時間を検討するために含浸時間を1日間または3日間として、含浸時間の違いによるアセタミプリド含有率への影響を調べた。この結果を図7に示す。

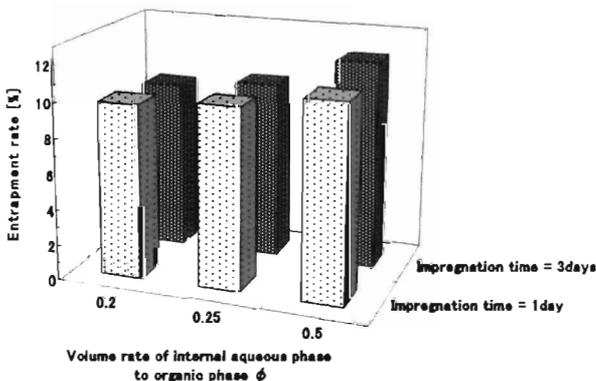


図7 異なる含浸時間における分散相容積相分率 ϕ と含有率との関係

結果として、 $\phi=0.5$ のマイクロカプセルにおいて含

浸時間1日間のとき含有率11.0%、3日間のとき含有率11.7%であり、その差は3つのカプセルの中で最大であったものの、その値はたった0.7%であった。含浸を3日間行ったほうが若干高い含有率が得られたものの、3日以上の含浸時間を要してもこれ以上含有率の大きな増加は見込めないため、含浸時間を3日間とすることでカプセル内外における含浸液濃度は十分平衡に達していると言える。これ以降は含浸を3日間行ったマイクロカプセルについて述べる。

図8に分散相容積相分率 ϕ の違いによるアセタミプリド含有率および比表面積への影響を示す。 ϕ の増加に伴って含有率、比表面積ともに増加する傾向を示し、 $\phi=0.5$ の条件で調製したとき含有率11.7%および比表面積 $7.6\text{m}^2/\text{g}$ で最大であった。これは市販アセタミプリド粒剤の約6倍量の含有率であった。含有率と多孔質マイクロカプセルの比表面積の相関より、カプセル内のアセタミプリドが壁材表面に多く固定化されていると考察できる。これより、結晶性個体であるアセタミプリドの含有率向上には、固定化担体の多孔質化すなわち比表面積の確保が必要不可欠であると言える。

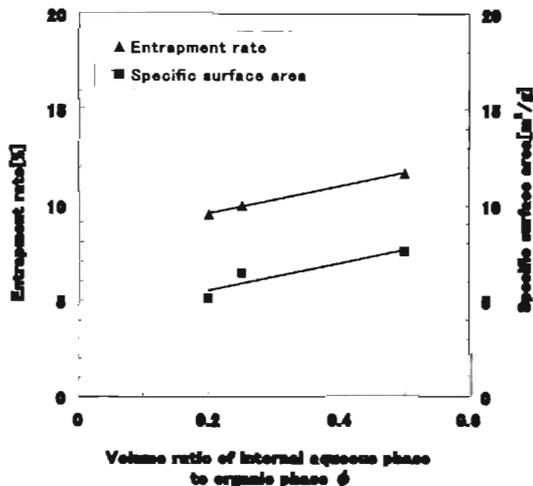


図8 分散相容積相分率 ϕ 、含有率、比表面積との相関

含浸させたマイクロカプセルからのアセタミプリドの徐放実験結果を図9に示す。調製したマイクロカプセルは全て24時間程度で徐放がストップし、それ以降の薬剤の放出は見られなかった。特に $\phi=0.5$ 及び0.25

は、徐放6時間後と24時間後との徐放率にも大差がなく、初期バーストを生じた。

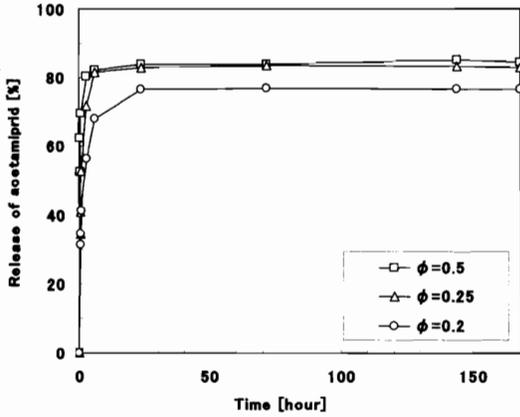


図9 異なる分散相容積相分率 ϕ における徐放挙動

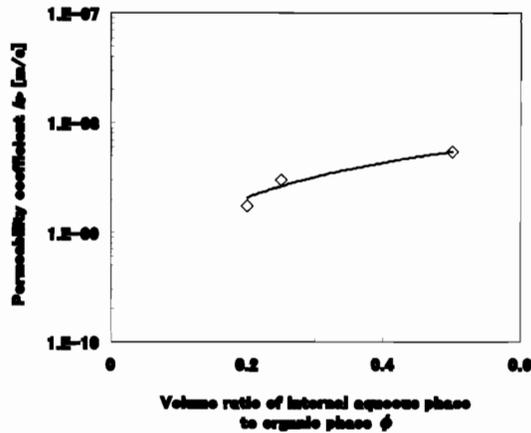


図10 分散相容積相分率 ϕ と透過係数との相関

この徐放実験結果から(2)式左辺と徐放時間との関係を図10に示し、ここで得られた直線の傾き(k_p)の値を表2に示した。

表2 分散相容積相分率 ϕ と透過係数との相関

	Volume ratio ϕ	Permeability coefficient k_p [m/s]
(a)	0.2	1.73×10^{-9}
(b)	0.25	3.04×10^{-9}
(c)	0.5	5.40×10^{-9}

マイクロカプセルの透過係数 k_p [m/s] は ϕ の増加に

伴って増加することがわかる。3.1項で ϕ が内部構造の変化に影響することを述べたが、マイクロカプセルに内包された薬剤の放出機構においてマイクロカプセルの内部構造は重要なファクターである。 ϕ の増加によりマイクロカプセルの内部構造が多孔質となって同時に比表面積が増大したことでアセタミプリド含有率は増加した。しかし一方で、より多孔質になり細孔容積が増えるということは壁材膜厚が減少することであり、これは内包薬剤の放出を容易にすると考えられ、結果として ϕ の値が大きいカプセルは初期バーストを生じたと考察できる。

4. 結言

W/O/W エマルジョンの液中乾燥法を利用して環境分解ポリマーを骨格物質とするマイクロカプセルを調製することができた。調製したマイクロカプセルは多孔質構造を有し、分散相容積相分率 ϕ の増加に伴ってより多孔質となった。調製したマイクロカプセルに水溶性殺虫剤であるアセタミプリドを固定化する含浸操作を利用することで、その含有率は約11.7%まで向上した。これは市販アセタミプリド粒剤(含有率2%)の約6倍量の高い含有率である。徐放実験の結果から算出した透過係数 k_p [m/s] の比較より、透過係数はカプセル壁の膜厚に影響を受けることがわかった。マイクロカプセルの透過係数に影響する分散相容積相分率 ϕ は、今後の徐放抑制に期待できる有効因子であると言える。

参考文献

- 1) Squillace, P.J. and E.M. Thurman, "Herbicide Transport in Rivers: Importance of Hydrology and Geochemistry in Nonpoint-Source Contamination", *Environ. Sci. Technol.*, Vol.26, pp.538-545 (1992)
- 2) Pereira, W.E. and F.D. Hostettler, "Nonpoint Source Contamination of Mississippi River and Its Tributaries by Herbicides", *Environ. Sci. Technol.*, Vol.27, pp.1542-1552 (1993)
- 3) Senseman, S.A., T.L. Lavy and T.C. Daniel, "Monitoring Groundwater for Pesticides at Selected Mixing/Loading

- Sites in Arkansas”, *Environ. Sci. Technol.*, Vol.31, pp.283-288 (1997)
- 4)Dowler,C.C., O.D.Dailey,Jr. and B.G.Mullinix,Jr., “Polymeric Microcapsules of Alachlor and Metolachlor: Preparation and Evaluation of Controlled-Release Properties”, *J. Agric. Food Chem.*, Vol.47, pp.2908-2913 (1999)
- 5)Tsuji,K., “Review: Microencapsulation of pesticides and their improved and handling safety”, *J. Microencapsulation*, Vol.18, No.2, pp.137-147 (2001)
- 6)Sopena,F., A.Cabrera, C.Maqueda and E.Morillo, “Controlled Release of the Herbicide Norflurazon into Water from Ethylcellulose Formulation”, *J. Agric. Food Chem.*,Vol.53, pp.3540-3547 (2005)
- 7)高橋英光, 高草伸生, 鈴木順次 岸本孝, “殺虫剤アセタミプリドの開発”, *日本農薬学会誌*, Vol. 23, pp. 193-200 (1998)
- 8)Yamamoto,I., G.Yabuta, M.Tomiyama, T.Saito, T.Miyamoto and S.Kagabu, “Molecular Mechanism for Selective Toxicity of Nicotinoids and Neonicotinoids”, *J. Pesticide Sci.*, Vol.20, pp.33-40 (1995)
- 9)Takei,T., M.Yoshida, K.Yanagi, Y.Hatate, K.Shiomori and S.Kiyoyama, “Preparation of acetamiprid-loaded polymeric microcapsules: influence of preparation parameter in emulsion system on microcapsule characteristics”, *Polym. Bull.*, in press (2008)
- 10) Takei,T., M.Yoshida, K.Yanagi, Y.Hatate, K.Shiomori and S.Kiyoyama, “Microcapsule enclosing water-soluble pesticide with low stability against environmental degradation”, *ITE-IBA Letters.*, Vol.1, No.1, pp.56-59 (2008)
- 11)Shiomori,K., J.Tanigushi, S.Kiyoyama, Y.Kawano and Y.Hatate, “Preparation and Release Characteristics of Biodegradable Microcapsules Encapsulating Activated Carbon Impregnated with Pesticide Using the Solvent Evaporation Method”, *J. Chem. Eng., Jpn.*, Vol.37, pp.357-346 (2004)
- 12)塩盛弘一郎, 河野恵宣, 清山史朗, 吉田昌弘, 幡手泰雄, “*In situ* 重合法によるマイクロカプセルの構造制御”, *粉体と工業*, Vol. 37, pp. 37-46 (2005)