

## 저분자량 polyethylene과 urea-formaldehyde 수지를 이용한 microencapsulation에 의한 곤충 페로몬의 model 화합물들의 slow release

김정한 · 오원택 · 김용진

연세대학교 식품공학과

**초록** : Wall 물질로 저분자량 polyethylene(LMPE)과 urea-formaldehyde 수지를 이용하여 일반적인 저분자 페로몬과 유사한 특성과 구조를 갖는 모델 화합물로서 citral, n-octanol, 그리고 쌀바구미, 옥수수바구미의 집합 페로몬 활성을 갖는 ( $\pm$ )-5-hydroxy-4-methyl-heptan-3-one을 microencapsulation하였다. Microencapsulation된 형태는 작은 입자형태의 분말상이었으며, LMPE를 wall 물질로 사용한 것 보다는 urea-formaldehyde 수지를 사용한 경우가 더 우수한 형태의 polymer를 얻었다. 또한 core 물질의 slow release 효과를 용매 추출법과 headspace 방법으로 측정된 결과 n-octanol과 citral은 40일 이상 그리고 5-hydroxy-4-methyl-heptan-3-one은 15일 이상 지속 효과를 보였다. 그리고 slow release되는 방식은 LMPE보다 urea-formaldehyde 수지가 상대적으로 초기 감소 경향이 완만하며 core 물질을 일정양씩 더 지속적으로 휘발시켰다.

현재 제약, 식품, 향장, 비료, 농약산업에서 다양하게 이용되고 있는 microencapsulation<sup>1-4)</sup>은 고체, 액체 또는 기체상의 물질 (core 물질)을 적당한 polymer(wall 물질)로 둘러싸 microcapsule을 형성시킴으로써 core 물질의 휘발되는 정도를 조절하고, 외부 자극으로부터 core 물질을 보호함으로써 안정성을 높여 목적 화합물의 활성을 장기간 지속시키며 core 물질의 물성을 바꿈으로써 조작성의 용이성을 부여하는 기술이다. 또한 이러한 microencapsulation은 유용한 성분의 안정성과 보존의 효과를 높이고, 첨가와 유해성분 제거의 용이함 등의 장점을 갖는다. 특히 현재 무공해성 농약으로 각광받고 있는 곤충 페로몬이 합성의 어려움으로 인해 고가이므로 한 번 살포한 후 약효가 장기간 지속적으로 일정한 농도를 천천히 휘발 (show release)케 하는 microencapsulation에 의한 slow release device에 대한 연구가 많이 진행되고 있다.<sup>5-7)</sup>

따라서 본 연구에서는 microencapsulation의 core

물질로 저분자 페로몬과 유사한 특성과 구조를 지닌 n-octanol, citral 그리고 쌀 바구미와 옥수수 바구미의 집합 페로몬의 활성을 갖는 ( $\pm$ )-5-hydroxy-4-methyl-heptan-3-one(1)<sup>8)</sup>을 core 물질로 선택하고, wall 물질로는 본 연구에서 사용한 core 물질에 적합하며, 가격이 싸고, 구입이 용이하며, 조작성이 간편한 저분자량 polyethylene(LMPE)<sup>9)</sup>과 urea-formaldehyde 수지<sup>10)</sup>를 사용하고자 하였다.

Microencapsulation은 suspension polymerization방법을 이용하고자 했으며, 용매 추출법과 headspace sampling 법<sup>11)</sup>을 이용하여 core 물질의 지속적인 slow release 효과 및 형태를 알고자 했다.

### 재료 및 방법

Microencapsulation에 이용한 wall 물질로 저분자량 polyethylene(Allied Chemical Corporation, U.S.A.)과 urea(Shinyo Pure Chemicals, Japan), formaldeh-

Key words : Microencapsulation, insect pheromones, low molecular weight polyethylene, urea-formaldehyde resin, slow release

Corresponding author : J. H. Kim

ylde(Kanto Chemical Co., Japan)의 copolymer로 사용하였으며, core 물질로는 n-octanol(Hayashi Pure Chemical Industries Ltd., Japan), citral(Aldrich Chemical Co., U.S.A.)을 구입, 사용하였고, (±)-5-hydroxy-4-methyl-heptan-3-one(1)은 Smith III과 Levenberg의 lithium enolate 축합방법<sup>12)</sup>에 의거하여 3-pentanone과 propionaldehyde를 출발물질로 하여 합성하여 사용하였다. Headspace sampling시 흡착제로는 graphited carbon black(GCB, Supelco Co., F. R. Germany)를 진공건조기에서 150°C 2시간 동안 활성화 시킨 후 사용하였고, 추출에 사용한 용매와 실험에 필요한 시약은 Aldrich와 동양이화학 제품을 구입, 사용하였다.

### 분석기기 및 조건

용매 추출법과 headspace sampling방법으로 얻은 core 물질의 분석에 사용한 GC는 HP-3392A integrater가 장착된 HP-5890A(Hewlett-Packard, U.S.A.) gas chromatograph를 사용하였다. 분석조건은 n-octanol경우 DB-1701 fused silica capillary column(14% cyano-propyl phenyl poly siloxane, 30m × 0.25mm I.D., 0.25µm)를 사용하였고, column온도는 200°C에서 220°C까지 2°C/min으로 상승시켰으며 그리고 280°C까지는 5°C/min로 상승시켰다. Injector 온도는 280°C, detector로는 FID를 사용하였으며 detection 온도는 300°C로 하였다. 운반기체는 질소가스(flow rate : 0.86~0.88ml/min)를 사용하였으며, split 비율은 29 : 1으로 하였다. Citral 경우는 column 온도를 160°C isothermal, 화합물 1 경우는 column 온도를 60°C에서 100°C까지 30°C/min으로 상승, 그리고 280°C까지는 10°C/min으로 상승시켰으며 다른 조건은 상기 조건과 동일하게 행하였다.

### 실험방법

#### 저분자량 polyethylene(LMPE)을 이용한 microencapsulation

Citral(2.5ml)와 증류수(30ml)를 온도계와 mechanical stirrer를 장치한 300ml 3구 둥근 플라스크에 넣고 격렬하게 교반(1000rpm)하여 emulsion상태를 충분히 만든다음 뜨거운 cyclohexane(50ml)에 녹인 LMPE(5g)을 천천히 첨가하였다. 이때 온도가 낮으면 LMPE이 재결정되므로 가열하면서 첨가시켰다. 첨

가가 끝난 뒤 2시간동안 충분히 교반한 후 반응물을 여과하고 에탄올로 세척한 뒤 microencapsulation된 polymer를 얻었다. 상기 polymer는 하룻동안 방치, 건조시켰다. n-Octanol을 core 물질로 사용시 상기방법과 동일하게 행하였다. 화합물(1)을 core 물질로 사용시는 1/10규모로 상기 방법과 동일하게 행하였다.

유화제를 첨가할 경우 Tween 80을 core 물질 첨가량의 1/2을 첨가하여 상기 방법과 동일하게 행하였다.

#### Urea-formaldehyde copolymer를 이용한 microencapsulation

Urea(12g)와 formaldehyde(32.5g)을 20분동안 교반한 후 triethanolamine을 사용하여 pH 8로 맞추고 교반(1000rpm)하면서 1시간 가열(69~71°C, heating mantle)하였다. 상기 용액에 증류수(60ml)를 첨가하여 얻은 precondensate를 13.05g 취하여 증류수(20ml)로 희석하고 citral(3g)을 첨가하여 3분간 교반하였다. 상기 용액을 5% 염산용액(0.7ml)으로 pH 2.3으로 조절하고, 45°C로 유지하면서 3시간 교반한 다음 냉각, 여과하여 얻은 polymer를 하룻동안 방치, 건조하여 microencapsulation된 polymer를 얻었다. n-Octanol과 화합물(1)은 상기 방법과 동일하게 행하였다.

유화제 첨가시 Tween 80을 사용하였으며 그 첨가량은 core 물질량의 1/2을 첨가하였다.

#### 용매추출에 의한 slow release 효과 측정

##### 1. LMPE를 이용한 microencapsulation

0.2g의 core 물질(citral)이 microencapsulation된 LMPE를 메탄올 30ml에 첨가한 후 10분간 교반하고 유기용 Millipore 여과지를 사용, 여과하였다. 상기 여액을 감압농축하여 얻은 core 물질을 n-hexane(1ml)에 녹여 시료로 하였다. 상기 polymer를 동일한 방법으로 일정 시간마다 7번 행하여 시료를 얻었다. Slow release 효과를 비교하기 위해 microencapsulation되지 않은 LMPE polymer(core 물질 0.2g을 함유)를 만든 뒤 비교하였다. 상기 시료들은 용매 추출법에 의한 slow release 효과와 형태를 알아보기 위해 GC로 정량 분석하였다. n-Octanol과 화합물(1)도 상기 방법과 동일하게 행하였다.

2. Urea-formaldehyde copolymer를 이용한 microencapsulation

0.2g의 core 물질이 microencapsulation된 urea-formaldehyde copolymer를 n-heptane(30ml)을 사용하여 방법 1과 동일하게 행하여 시간에 따른 시료를 얻어 GC로 정량 분석하였다.

Headspace장치를 이용한 slow release 효과 측정

1. LMPE를 이용한 microencapsulation

두 개의 유리관에 25mg의 citral이 microencapsulation된 LMPE와 25mg의 citral을 따로 각각 넣고 질소가스를 4ml/sec로 6시간씩 통과시켰다. 이때 휘발된 citral을 GCB column에 흡착시켜 흡착된 citral을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>로 elution시켰다. 상기 유기층을 감압증류로 용매를 완전히 제거하여 얻은 잔여물에 isoctane을 첨가하고 GC에 주입, 서로 비교하였다. 이러한 조작을 매일 반복적으로 실시하였다. 또한 n-octanol과 화합물 (1)의 LMPE를 동일하게 행하였다.

2. Urea-formaldehyde copolymer를 이용한 microencapsulation

25mg의 core 물질이 microencapsulation된 urea-formaldehyde copolymer와 25mg의 core 물질을 각각 방법 1과 동일하게 행하였다.

결과 및 고찰

LMPE를 이용한 microencapsulation

Citral 현탁액은 유백색을 띠며 교반시간이 길어짐에 따라 점도가 증가하며, 겔 상태의 현탁액을 여과시에 탄올로 세척하면 겔 상태에서 분말상의 polymer로 되었다. 상기 생산물은 분말 형태이며 그 입자는 거칠며 컷다. 이를 분쇄하여 약간 거칠며 입자가 고운 하얀색의 분말을 얻었다. 유화제를 첨가하지 않았을 경우(A)에 비하여 유화제를 첨가한 경우(B)의 현탁액은 점도가 훨씬 컸으며, 또한 생산물의 표면이 더 부드럽고 고운 분말을 얻을 수 있었다. 상기 분말들을 scanning electron microscoph(SEM)으로 관찰한 결과 유화제를 첨가하면 microcapsule droplet 형태가 A의 경우와 같이 부정형이었으나, A의 경우보다 상대적으로 더 작고 고른 크기로 분포되어 있으며, 표면

역시 훨씬 매끄러운 모습이었다. 따라서 유화제를 첨가할 경우가 core 물질이 wall 물질에 고르게 분포되어 microencapsulation이 잘된 polymer를 얻을 수 있었다.

또한 첨가하는 polymer의 양에 따라 polymer의 성상이 다르게 나타났다. 25ml의 cyclohexane에 2.5g의 LMPE를 녹여 citral(2.5ml)을 microencapsulation시켰을 경우 표면이 상당히 끈적한 점성의 질형 polymer가 얻어지나, 50ml cyclohexane에 5g의 LMPE를 사용할 때는 표면의 끈적한 점성이 많이 감소하여 분쇄시 용이하게 미세한 분말을 얻을 수 있었다.

1. 반응 조건에 따른 retention ratio의 변화

Microencapsulation종결 시 얻은 여액을 과량의 n-hexane을 사용하여 microencapsulation되지 않은 core 물질을 추출하였다. 상기 유기층을 감압증류하여 얻은 잔여물을 Millipore여과지로 LMPE를 제거한 후 무게를 측정하여 retention ratio를 결정하였다. Retention ratio 결정의 관계식은 아래와 같다.

$$\text{Retention ratio}(\%) = \frac{\text{microencapsulation된 양}}{\text{총 core 물질의 양}} \times 100$$

1) 교반시간에 따른 retention ratio

750rpm으로 고정 교반하였을 때 교반시간에 따른 retention ratio를 비교하였다. LMPE를 완전히 첨가하고 30분 경과 후 retention ratio는 44%이고 retention ratio는 교반시간을 증가시킴에 따라 점점 증가하여 2시간 경과 후 retention ratio는 62.5%였다(그림 1). 그리고 2시간 이상 교반시켜도 retention ratio의 큰 증가를 볼 수 없었다. 상기 결과로 citral 현탁액에서 cyclohexane에 녹인 LMPE가 재결정되면서 citral을 둘러싸 microencapsulation되는 interfacial polymerization이 완전히 이루어지는 시간은 최소한 2시간 이상이였다.

2) 교반 속도에 따른 retention ratio

교반 속도가 낮은 경우는 core 물질이 충분히 분산되지 않아 polymer가 뭉쳐지는 현상과 함께 결국 딱딱한 판정의 polymer를 형성하였으며 250rpm일 때는 retention ratio가 34.5%로 가장 적게 나타났으며, 1250rpm일때는 polymer가 완전히 분산되며 polymerization 후 분말상태를 얻을 수 있었으며, retention ratio가 69%로 가장 높게 나타났다(그림 2). 상기

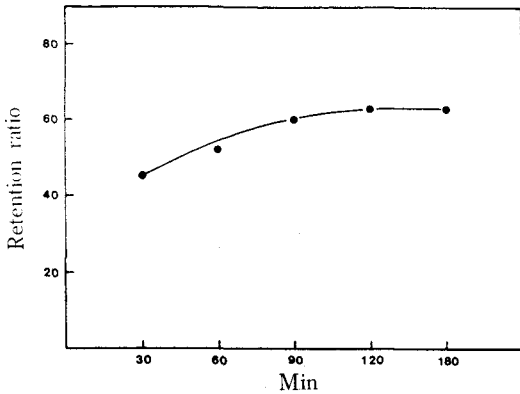


Fig. 1. Change of retention ratio by agitation time.

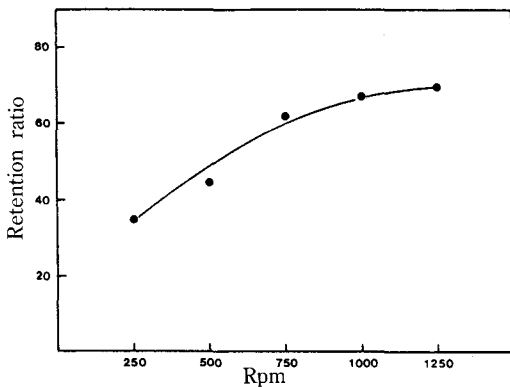


Fig. 2. Change of retention ratio by agitation speed.

결과로 core 물질과 증류수의 현탁액 형성시 빠르고 격렬하게 교반시켜야만 citral droplet이 작고 고르게 분산되어 많은 양의 citral이 microencapsulation된다는 것을 알 수 있었다.

그리고 그림 1과 그림 2를 비교하면 교반 시간보다는 교반 속도에 따른 retention ratio의 영향이 훨씬 더 크다는 것을 알 수 있었다.

**Urea-formaldehyde copolymer를 이용한 microencapsulation.**

Urea-formaldehyde copolymer를 이용하여 상기 core 물질을 microencapsulation시켰을 경우 LMPE를 사용하여 얻은 polymer에 비해 보송 보송하며 보드랍고 미세한 분말 형태의 polymer를 얻었다. 또한 유화제 첨가시 더 보드라운 분말형 polymer를 얻었다.

유화제를 첨가하지 않았을 경우(A)와 유화제를 첨가한 경우(B)의 생성물 표면을 SEM으로 관찰한 결과 B 경우가 A의 경우(그림 3)보다 microencapsule dro-

plet의 형태가 조금 더 타원형이며, 상대적으로 더 작고 고르게 분포되어 있으며, 표면 역시 매끄러웠다(그림 4). 따라서 유화제를 첨가한 경우(B)가 core 물질이 wall 물질에 고르게 분포되어 microencapsulation이 잘된 polymer를 얻을 수 있었다.

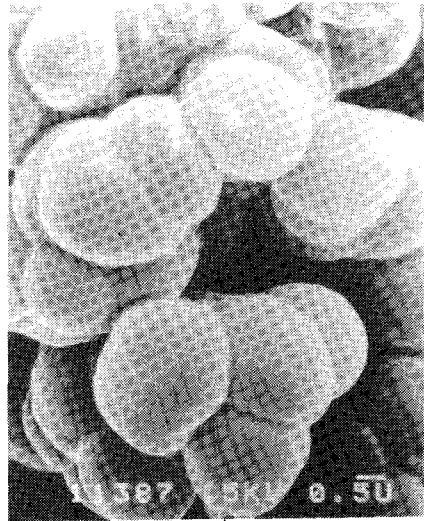


Fig. 3. Scanning electron microscoph of urea-formaldehyde copolymer microencapsulated citral without added emulsifier.

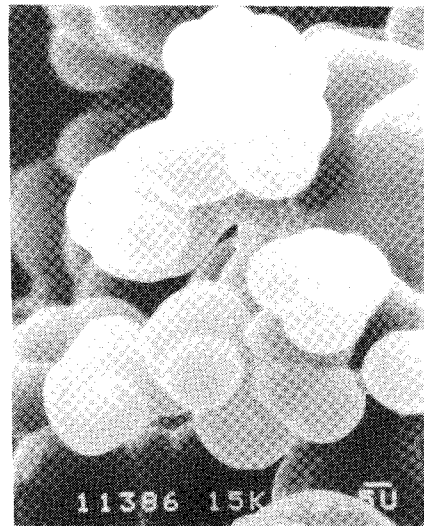


Fig. 4. Scanning electron microscoph of urea-formaldehyde copolymer microencapsulated citral with added emulsifier (Tween 80).

상기 polymer로 microencapsulation시 retention ratio에 대한 유화제의 효과는 LMPE로 microencapsulation할 때 보다 효과는 적었으나 core 물질이 고르게 분산되도록 하는 효과는 있었다. 또한 LMPE와 urea-formaldehyde copolymer를 비교해 볼때 LMPE로 microencapsulation시키는 것이 urea-formaldehyde copolymer보다는 용이하나, urea-formaldehyde copolymer로 생성시킨 microcapsule이 더 입자가 작고 미세하였다.

Citral 경우는 3g 첨가하면 wall 물질의 수용 능력을 넘기때문에 coating되지 못한 citral이 wall 물질의 표면에 묻어 노란색을 띤 습한 polymer를 형성하였으며, citral을 1g 첨가하였을 경우는 노란색이 없어지며 습한 기운이 없는 보드라운 분말형태의 polymer를 얻을 수 있었다.

상기 방법으로 얻은 여액에서 microencapsulation 되지 않은 core 물질을 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>로 추출하여 retention ratio(%)를 결정하였다. Citral을 core 물질로 할 경우 retention ratio가 83%였으며, Tween 80을 첨가시(85%)와 큰 차이가 없었다. 화합물(1)과 n-octanol을 microencapsulation시켰을 경우 상기 결과와 유사하게 나타났으며 urea-formaldehyde copolymer를 이용하여 microencapsulation하였을 경우 얻은 polymer속에 있는 core 물질의 함량은 45%이었다.

**용매 추출에 의한 slow release 효과**

1. LMPE에 의하여 microencapsulation된 citral과 encapsulation되지 않은 citral을 메탄올로 용매 추출하여 GC로 정량분석하여 비교한 결과 그림 5와 같았다. Encapsulation되지 않은 citral은 2번 추출하면

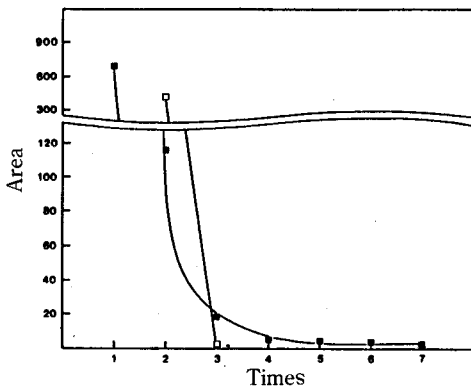


Fig. 5. Comparison of slow release by solvent extraction between microencapsulated citral with LMPE and unencapsulated citral.

—■— : microencapsulation, —□— : unencapsulation

다 추출되지만 microencapsulation한 경우는 양이 초기 추출시 급격히 감소하다 4번째 추출부터는 일정 수준에서 유지되었다. 초기 추출시 분쇄할 때 노출된 capsule과 wall이 얇은 곳에 microencapsulation되어 있던 citral이 용매에 추출되어 나오나, capsule 내부에 제대로 encapsulation된 citral은 메탄올에 쉽게 추출되지 않아 일정한 양의 citral이 지속적으로 추출되었다.

2. Urea-formaldehyde copolymer를 이용한 microencapsulation

Urea-formaldehyde copolymer에 의하여 microencapsulation된 citral과 encapsulation되지 않은 citral을 추출하여 측정, 비교한 결과 그림 6과 같았다. Encap-

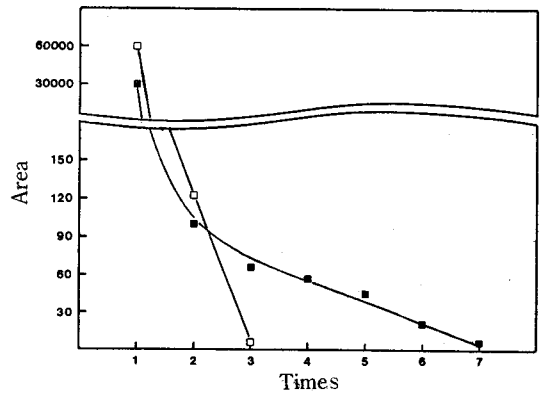


Fig. 6. Comparison of slow release by solvent extraction between microencapsulated citral with urea-formaldehyde copolymer and unencapsulated citral.

—■— : microencapsulation, —□— : unencapsulation

sulation하지 않은 경우는 급속히 제거되지만 urea-formaldehyde copolymer로 microencapsulation하였을 경우는 LMPE로 microencapsulation했을 때보다는 처음 2~3회 추출시 감소추세가 둔화되었으며, 추출 횟수가 거듭됨에 따라 추출되는 citral의 양도 감소되었다. 이는 citral이 urea-formaldehyde copolymer의 microencapsulation시 아주 고르게 분산되어 있어 급격한 감소추세가 없었으나, 상대적으로 LMPE보다는 두께가 얇고 n-heptane에 대한 urea-formaldehyde copolymer의 용해도가 메탄올에 대한 LMPE의 용해도 보다 커서 추출횟수가 거듭됨에 따라 손상이 커져 지속적으로 일정한 추출량을 보이지 않고 추출되는 citral의 양이 점점 감소되었다.

**Headspace sampling method를 이용한 slow release 효과**

**1. LMPE를 이용한 microencapsulation**

LMPE microencapsulation된 citral의 release되는 양을 GCB column에 흡착하여 GC로 분석한 결과 그림 7과 같았다. 검출된 citral의 양이 처음에는 추출법에 의한 결과와 같이 급격히 감소하다가 4일 부터는 계속 일정 수준을 유지하면서 24일 이상 유지되는데 이러한 현상은 citral이 휘발성이므로 외벽에 묻어 있던 citral과 파괴되거나 노출된 capsule 등에 의해 많은 양이 검출되다가 제대로 microencapsulation된 microcapsule로부터 citral이 일정양씩 휘발되는 것을 보여 주는 것이다. Citral과 n-octanol을 microencapsulation시켜 40일 방치한 후에도 상기 방법으로 휘발되는 core 물질을 분석할 수 있었다. 화합물(1) 경우는 그림 8과 같았으며 15일 이상 휘발되었다.

**2. Urea-formaldehyde copolymer를 이용한 microencapsulation**

Urea-formaldehyde copolymer로 microencapsulation된 citral의 release되는 양을 GCB column에 흡착하여 GC로 분석한 결과(그림 7) LMPE와 같이 처음에는 급격히 감소하다가 24일 이상 일정한 수준을 유지하였다. 그러나 처음 며칠간은 휘발되는 양이 LMPE에 비해 상대적으로 적으며 그 감소 추세도 완만하였으며 며칠이 지난 후, LMPE를 통해 휘발되는 citral의 양보다 많은 양이 일정 수준으로 휘발되었다. 상기 결과는 urea-formaldehyde copolymer가 LMPE에 비하여 microencapsulation제조시 손상이 적으며, 두께는 얇으나 citral이 고르게 분포되어 있어 처음 며칠은 적은 양의 citral이 휘발되고, 표면에 묻어있던 citral이 완전히 휘발된 후에는 wall의 두께가 얇아 상대적으로 많은 양의 citral이 휘발되어 나타나는 것으로 생각된다. 화합물(1)을 microencapsulation하여 headspace sampling method를 사용하여 release 형태를 알아 본 결과(그림 8) citral과 같이 처음 며칠은 급격히 감소하다가 일정 수준으로 15일 이상 휘발되는 것을 GC로 확인할 수 있었다. Citral과 n-octanol을 microencapsulation시켜 40일 방치한 후에도 상기 방법으로 휘발되는 core 물질을 분석할 수 있었다.

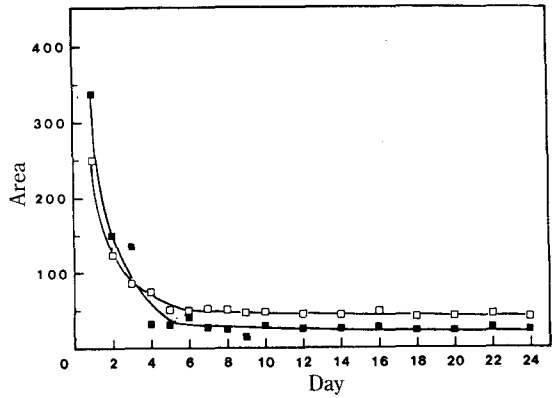


Fig. 7. Slow release pattern of microencapsulated citral monitored by headspace sampling method.

— ■ — : LMPE, — □ — : urea-formaldehyde copolymer

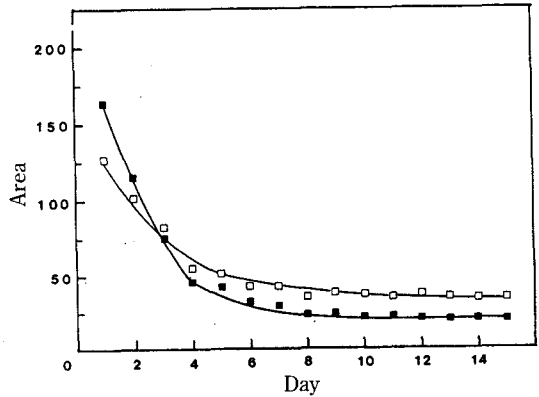


Fig. 8. Slow release pattern of microencapsulated(±)-5-hydroxy-4-methyl-heptan-3-one monitored by headspace sampling method.

— ■ — : LMPE, — □ — : urea-formaldehyde copolymer

## 참 고 문 헌

1. Sliwa, S. : *Angew. Chem. Int. Ed.*, 14 : 539 (1975)
2. Luzzi, A.L. : *J. Pharm. Sci.*, 59 : 1367 (1970)
3. Dziezak, J.D. : *Food Tech.*, 42 : 136 (1988)
4. Mutka, J.R. and Nelson, D.B. : *Food Tech.*, 42 : 154 (1988)
5. Shin-Etsu Chemical Industry Co., Ltd : Japanese Patent 58-183,601 (1983)
6. Nitto Electric Industrial Co., Ltd. : Japanese Patent 57-150,603 (1982)
7. Giichi M. : Japanese Patent 61-59,733 (1986)
8. Phillips, J.K., Walgenbach, C.A., Klein, J.A., Burkholder, W.E., Schmuff, N.R. and Fales, H.M. : *J. Chem. Ecol.*, 11 : 1263 (1985)
9. Pelah, Z. and Marcus, A. : Israeli IL 56,709 (1982)
10. Golden, R. : U.S. Patent 4,157,983 (1979)
11. 김재정 : 연세대학교 석사학위논문 (1989)
12. Smith III, A.B. and Levenberg, P.A. : *Synthesis* : 567 (1981)

**Slow release of microencapsulated model compounds of insect pheromone using low molecular weight polyethylene and urea-formaldehyde resin**

Jung-Han Kim, Won-Teak Oh and Yong-Jin Kim(Department of Food Engineering, Yonsei University, Seoul 120-749, Korea)

**Abstract** : As the model compounds, citral and n-octanol which possess similar characteristics and structures of low molecular weight insect pheromones and ( $\pm$ )-5-hydroxy-4-methyl-heptan-3-one which shows the aggregation pheromones activity of the rice weevil and the maize weevil were microencapsulated with low molecular weight polyethylene(LMPE) and urea-formaldehyde resin as wall materials. The core materials were microencapsulated as small particles in LMPE and urea-formaldehyde resin polymers and the microencapsulated polymers were white powders. And the polymer made from urea-formaldehyde resin was better than that from LMPE as wall material. The slow releasing effect and the releasing patten of the microencapsulated core materials were examined by solvent extraction method and headspace sampling method. Citral and n-octanol and ( $\pm$ )-5-hydroxy-4-methyl-heptan-3-one were release more than 40 days and 15 days, respectively. The releasing pattern of urea-formaldehyde resin microcapsules showed rather smooth decrease than that of LMPE and was maintained at steady level longer.