

왁스매트릭스를 이용한 방출조절형 acetamiprid입제의 화학적, 독성학적 특성

이원기* · 양경형 · 이창혁 · 이승일¹ · 황인천

(주)경농 중앙연구소, 1서라벌대 친환경농업기술과

요약 : 방출조절형 acetamiprid 2% 입제 개발을 목적으로 폴리에틸렌왁스를 사용하여 수불용성 매트릭스를 형성하였고, 방출 속도 조절제로 전분, 셀룰로즈, 미네랄(탄산칼슘) 3종에 대해 동일 조건에서 수중용출성을 비교 시험하였다. 그 결과, 탄산칼슘을 사용함으로써 시험원제의 방출속도를 가장 지연시킬 수 있었다. 폴리에틸렌왁스와 전분, 셀룰로즈와의 수중용출성 시험에서는 전분과 셀룰로즈의 함량이 증가할수록 원제의 수중용출율은 증가하였으며, 폴리에틸렌왁스와 탄산칼슘과의 수중용출성 시험에서는 탄산칼슘의 함량이 증가할수록 원제의 수중용출율은 감소하였다. 이에 따라 방출 속도 조절제로 탄산칼슘을 선발하였고 매트릭스 형성제인 폴리에틸렌왁스의 함량을 조절함으로써 여러 가지 수중용출율을 갖는 입제를 만들 수 있었다. 이 중 폴리에틸렌왁스를 2, 10, 20% 사용하여 25°C, 24시간 후에 수중용출성이 각각 75, 50, 25%인 세 가지 처방의 입제를 만들 수 있었고, 원제와 수중용출성을 가장 많이 지연시킬 수 있었던 폴리에틸렌왁스가 20%인 것에 대해 경구 및 경피 독성시험 결과, 매트릭스 형성제의 함량이 20%인 처방 제품이 안전한 것으로 나타났다. (2005년 4월 28일 접수, 2005년 9월 20일 수리)

색인어 : 방출조절형 입제, 아세타미프리드, 왁스 매트릭스, 조절제.

서 론

농약은 이미 우리의 식량 확보를 위한 작물보호에 있어서 병·해충·잡초 등과의 끊임없는 싸움에서 우위를 점할 수 있는 농업자재의 하나로 자리매김하고 있으나 대부분의 농약은 유기 합성 화합물로서 사용이 엄격히 관리되고 있음에도 불구하고 물질 자체가 가진 인축 독성, 농산물 중의 잔류 등 환경 위해성 때문에 사회적으로 문제가 제기되기도 한다.

최근 들어 농촌인구의 급격한 감소로 인한 노동력 부족과 환경에 대한 영향을 최소화하기 위하여 유기 농법, 생물적 방제, 해충의 종합적 관리 등으로 약제 살포 횟수를 줄여 환경 중으로 도입되는 농약의 양을 최소화 하는 생력적이며, 환경친화형 농법에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(정 등, 2000). 이것에 대한 대표적인 예는 Jumbo형 제제, Microcapsule형 제제, 방출조절형 제제(controlled release formulation) 등이 이러한 요구를 만족 시켜주는 제형의 일종이다(Wilkins, 1990).

그 중 방출조절형 제제는 약제 처리 후 최고 허용 농도에서 급격하게 감소되는 일반 입제와는 달리 일

정 시간 동안 약효발현농도 이상을 유지하여 약효를 지속적으로 방출하는 특성을 나타낸다(P. C. Kearney, 1997). 그리고 해충 방제를 위해 기존의 입제에 비해 적은양의 처리로도 약효지속기간을 유지할 수 있으므로 농약사용량을 줄일 수 있다(A. H. Neogi and G. G. Allan, 1974). 따라서 친환경적이며 생력화에 유리한 제형이라 할 수 있다. 방출제어 원리는 Fig 1에서 보는 바와 같이 4가지 유형으로 나타낼 수 있으며, 농약원제를 막으로 코팅하여 방출을 제어하는 형태(Fig 1A, 1C)와 왁스(wax)나 리그닌(lignin) 등을 이용하여 필터와 같은 매트릭스(matrix) 층을 형성하여 방출을 제어하는 형태(Fig 1B, 1D)로 크게 나눌 수 있다. 불용성 막이나 불용성 매트릭스의 경우(Fig 1A, 1B)에는 유효성분이 모두 용출된 후에도 막이나 매트릭스가 남아 있게 되고, 수용성 막 또는 매트릭스가 사용된 경우(Fig 1C, 1D)에는 수용성 물질이 물에 먼저 녹은 후 유효성분이 방출되는 특성을 가진다(岡野定輔, 1984). 일반적으로 수용성이 높은 성분이나 수중에서 대상성분을 용출 조절하고자 하는 경우에는 수분 투과도의 조절이 가능한 전자의 방법(Fig 1A, 1B)이 사용되어지며, 특히 불용성 매트릭스를 이용하는 방법(Fig 1B)의 경우는 작업의 편리성과 우수한 경제성으

*연락처

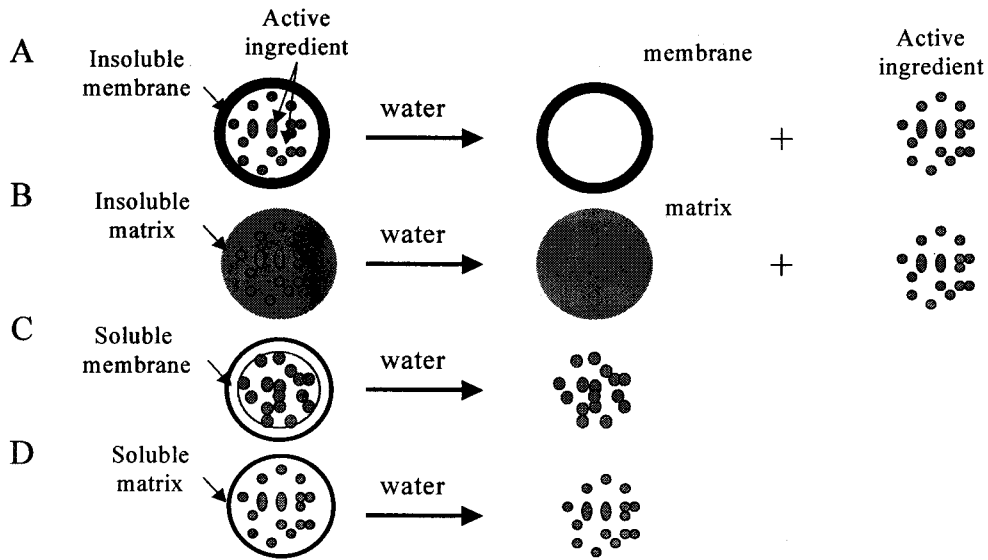


Fig. 1. The mechanism of dissolution profile of 4 types from controlled-release granule.

로 상업화가 용이한 방법이라고 할 수 있다. 불용성 매트릭스 형성제로는 다양한 계통의 고분자가 연구되어지고 있는데 Fernandez-Perez 등(1998)은 매트릭스 형성제로 리그닌(lignin)을 사용하였고 김효열 등(1996)은 매트릭스 형성제로 지방족 폴리에스테르(polyester)를 이용하여 방출조절형 농약제제의 특성을 보고하였다.

이러한 방출조절형 농약제제는 기존 입제의 빠른 방출시간에 의해 발생하는 약해와 짧은 약효지속기간 등의 단점을 보완하고 사용량을 줄여 환경에 대한 영향을 최소화할 수 있으며, 본 연구는 살충제인 acetamiprid를 대상으로 불용성 매트릭스 형태의 입제를 제조하고 적합한 방출 속도 조절제를 선별하여 매트릭스 형성제의 함량별로 방출특성을 비교하고자 수행하였다.

재료 및 방법

원재 및 부자재

실험에 사용한 농약원재 acetamiprid는 4,250 ppm의 높은 수용해도를 가진 neonicotinoid 계 살충제이다. 실험에 사용된 acetamiprid는 일본의 Nippon Soda 회사에서 생산된 순도 99.9% 원재를 사용하였다.

매트릭스 형성을 위하여 폴리에틸렌왁스(polyethylene wax, Max chemical, 한국)를 사용하였고 방출 속도 조절제로는 전분(soluble starch, Yakuri pure chemical, 일본), 셀룰로즈(carboxymethyl cellulose, Koje, 한국), 탄산칼슘(calcium carbonate, Duksan pure chemical, 한국)을 각각 구입하여 사용하였으며, 증량

제로는 탈크(talc, Wangpyo chemical, 한국)를 구입하여 사용하였다.

원재의 수중용출성 시험

수중 용출성 시험방법은 2 g의 acetamiprid 2% 입제를 50 ml 삼각 플라스크에 정확히 칭량하고 물 25 ml를 가한 후 25℃ 정온기(B.O.D Incubator, Model DR-111, 대륜과학, 한국)에 정치시킨 다음, 일정 시간 경과 후 여과지(Filter paper No 42, Whatman, 영국)를 이용해 여과된 여액 10 ml를 취하고 내부표준용액 10 ml과 혼합하여 HPLC로 분석하였다. 내부표준용액은 0.8 g의 DMP(Dimethyl phthalate, Tokyo kasei kogyo, 일본)를 100 ml의 acetonitrile에 용해시켜 이용하였으며, HPLC 분석용 표준용액은 acetamiprid 표준품 0.02 g를 50 ml 삼각 플라스크에 칭량하고 내부표준용액 10 ml를 가하여 완전히 용해시킨 후 물 10 ml를 첨가하여 제조하였다. 기기분석 조건은 Table 2와 같고 결과분석은 HPLC/UVD에서 나타난 피크의 면적비에 의해 정량 분석된 acetamiprid양을 제품의 함량과 비교하여 용출율을 결정하였다.

방출 속도 조절제의 선별시험

매트릭스 형성제인 폴리에틸렌왁스를 전체량의 25%로 고정시키고 방출 속도 조절제인 전분, 셀룰로즈, 탄산칼슘의 함량을 5, 10, 15%로 달리하여 각각 acetamiprid 2% 입제를 제조하였다(Table 1). 입제의 제조방법은 고상의 원재, 증량제, 부자재를 계량한 후 균일하게 혼합한 다음 물을 이용해 고상의 혼합물을 혼합·반죽한 뒤 바스켓타입의 입제제조기(Basket

Table 1. Quantities of active ingredient and inert materials used in the granular formulations of acetamidrid for controlled release

Formulation code	Composition(%)					
	a.i.	Starch	Cellulose	Calcium carbonate	Wax	Talc
1	2	5	-	-	25	68
2	2	10	-	-	25	63
3	2	15	-	-	25	58
4	2	-	5	-	25	68
5	2	-	10	-	25	63
6	2	-	15	-	25	58
7	2	-	-	5	25	68
8	2	-	-	10	25	63
9	2	-	-	15	25	58

Table 2. HPLC conditions for the determination of acetamidrid from the granular formulation into water

Instrument	HPLC/UVD
Column	μ -Bondapak C ₁₈ (3.9×300mm)
Mobile phase	CH ₃ CN : H ₂ O : H ₃ PO ₄ = 30:70:0.05
Wavelength	250nm
Flow rate	1.5ml/min
Injection volume	5 μ l

ryuzer-BR200, Fuji Paudal, 일본)를 이용해 조립하였다. 조립된 입제는 유동층건조기(Spray granulator, Powrex, 일본)로 건조하고 상온에서 선별하여 시험시료로 사용하였으며, 입제를 제조할 때 사용한 screen의 크기는 지름 1.2 mm이었다.

상기의 방법으로 제조된 입제들은 처방별 비교평가를 위하여 6, 12, 18, 38, 48, 72 시간동안의 주성분 수중 용출성을 측정하였다.

방출 속도 조절제의 함량별 원제 방출특성 비교시험

매트릭스 형성제인 폴리에틸렌왁스를 전체량의 25%로 고정시키고 선발된 방출 속도 조절제인 탄산칼슘의 함량을 30, 40, 50%로 달리하여 각각 acetamidrid 2% 입제를 제조하였다(Table 3). 입제의 제조 및 수중 용출성 시험은 방출 속도 조절제의 선

발시험과 동일한 방법을 사용하였다.

매트릭스 형성제의 함량별 원제 방출특성 비교시험

상기의 시험을 통하여 선발된 방출 속도 조절제를 40%로 고정시키고, 매트릭스 형성제인 왁스의 양을 2, 10, 20%로 달리하여 3종의 acetamidrid 2% 입제를 제조하였다(Table 3). 제조한 입제는 원제의 방출특성을 비교하기 위하여 수중 용출성을 비교하였고 독성평가 시험용 시료로 사용하였다. 입제의 제조 및 수중 용출성 시험은 방출 속도 조절제의 선발시험과 동일한 방법을 사용하였다.

독성 평가

상기의 시험을 통하여 최종적으로 선발된 acetamidrid 2% 입제에 대하여 급성경구독성과 급성경

Table 3. Quantities of active ingredient and inert materials used in the granular formulations of acetamidrid for controlled release

Formulation code	Composition(%)			
	a.i.	Wax	Mineral	Talc
10	2	2	40	56
11	2	10	40	48
12	2	20	40	38
13	2	25	30	43
14	2	25	40	33
15	2	25	50	23

피독성 시험을 수행하였다. 시험에 이용된 방법은 농진청 고시 제2003-7호 『농약의 등록시험 기준과 방법 - 독성시험 기준과 방법』에 따랐다(농촌진흥청, 2003).

결과 및 고찰

방출 속도 조절제의 선발시험

불용성 매트릭스 형성제로 선발된 폴리에틸렌왁스는 제품이 다양하고 취급이 용이하며, 물리화학적 특성 또한 우수하지만 단독으로는 방출 조절이 어려워 추가적인 방출 속도 조절제의 선발이 필수적이다. 이를 위하여 물리화학적 특성이 상이한 전분, 셀룰로즈, 탄산칼슘을 대상으로 시험을 실시하였다. 매트릭스 형성제인 폴리에틸렌왁스의 양을 25%로 고정시키고, 용출 속도 조절제인 전분, 셀룰로즈, 탄산칼슘의 양을 각각 5, 10, 15%로 달리하여 acetamidrid 2% 입제를 제조하여(Table 1) 처방별로 수중 용출성을 비교하였다. 그 결과, 처방1, 2, 3에서 acetamidrid 원제의 수중 용출성은 전분의 함량이 증가함에 따라 증가하였으며, 초기 12시간 내의 용출율에서 현격한 차이를 보여주었다. 이는 전분이 물에 의해 용해됨으로써 공극이 발생되고 전분함량이 5%일 때 보다 15%일 때가 수용성이 증가하여 공극이 더욱 크게 형성되어 유효성분의 용출율을 증가시켰다(Fig 2). 처방4, 5, 6의 경우도 셀룰로즈의 함량이 증가함에 따라 원제의 용출율이 증가하는 현상이 나타났으나, 셀룰로즈의 함량이 5%에서 15%로 변화되었을 경우에는 12시간 동안의 용출율차가 그다지 크지 않았다. 이는 셀룰로즈가 물을 흡수할 수 있는 능력이 있으며 그 함수능은 수

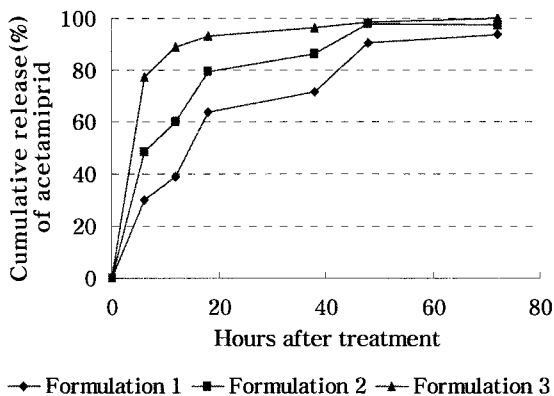


Fig. 2. Release profile of acetamidrid(a.i.) from the granular formulations prepared with wax and starch into water static condition at 25°C.

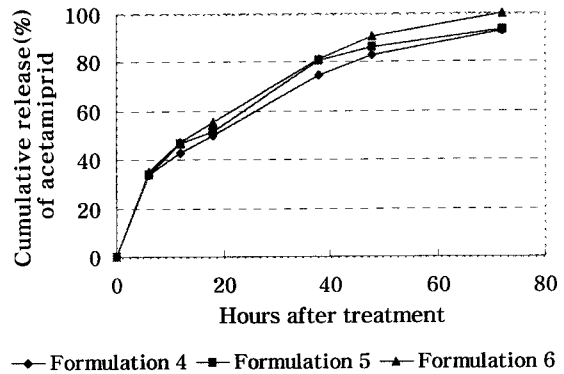


Fig. 3. Release profile of acetamidrid(a.i.) from the granular formulations prepared with wax and cellulose into water static condition at 25°C.

용성전분에 비해 우수하지 않기 때문에 셀룰로즈의 함량증가에 따라 유효성분의 용출율의 차이가 크지 않았던 것으로 판단된다(Fig 3). 마지막으로 처방7, 8, 9의 경우, 탄산칼슘의 함량을 5%에서 15%로 증가시켰을 때 유효성분의 수중용출율이 감소하는 경향을 나타내었으며, 처방별로 큰 차이를 보이지는 않았다(Fig 4). 탄산칼슘의 함량을 증가시키므로써 유효성분의 수중용출율이 감소하는 것은 매트릭스의 공극이 탄산칼슘의 함량이 증가함에 따라 작아지기 때문으로, 이러한 현상은 함수능이 거의 없는 미네랄(탄산칼슘)의 함량이 증가함에 따라 매트릭스의 조밀도가 증가됨으로써 유효성분이 물과 접촉하는 경우가 감소한 것에 기인할 것으로 판단된다. 또한 탄산칼슘의 함량에 따른 유효성분의 수중용출율 차이는 시간이 경과함에 따라 크게 나타났는데 이는 시간이 지남에 따라 유효성분이 입제로부터 용해되어 나오면서 공극이 형성되어 입제속의 유효성분이 물과 접촉하는 경우가

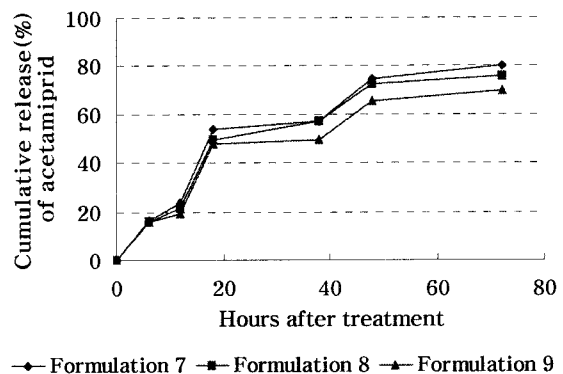


Fig. 4. Release profile of acetamidrid(a.i.) from the granular formulations prepared with wax and calcium carbonate into water static condition at 25°C.

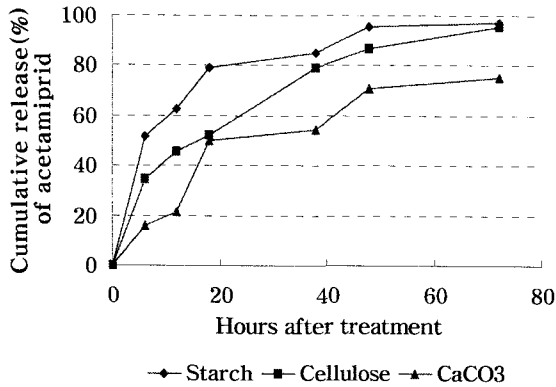


Fig. 5. Release profile of acetamid(a.i.) from the granular formulations prepared with starch, cellulose, calcium carbonate and wax into water static condition at 25°C.

증가되고 초기에 유효성분이 입제로부터 많이 방출된 경우 시간이 경과 할수록 점차 더 많이 방출되었기 때문으로 판단된다. 세 종류의 방출 속도 조절제를 동일함량인 10%를 기준으로 하여 비교해 보면, 단위 시간당 acetamid의 수중용출율이 가장 높은 것은 전분이었으며, 셀룰로스가 전분에 비해 acetamid의 방출을 조금 더 지연시킬 수 있었으며, 탄산칼슘의 경우는 단위 시간당 acetamid의 수중용출율이 가장 낮게 나타났다(Fig 5). 이는 전분의 경우 물에 용해되면서 입제의 공극을 가장 많이 형성시켜 acetamid와 물이 만나는 효과를 증대시켰기 때문에 수중용출율을 가장 많이 증대시킨 것이며, 셀룰로스의 경우는 전분보다는 친수성이 적으나 미네랄(탄산칼슘)보다는 친수성이 높기 때문에 용출성 차이가 뚜렷하게 나타난 것으로 해석된다.

이상의 결과로부터 폴리에틸렌왁스를 이용한 불용성 매트릭스의 경우, 방출 속도 조절제의 종류에 따라 수중용출율이 상이하게 나타나며 방출 속도 조절제의 종류 및 함량을 조절함으로써 acetamid의 방출을 조절할 수 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 본 실험에 사용된 acetamid의 경우, 적용 작물과 대상 해충을 고려할 때 낮은 초기 용출율과 긴 약효지속효과가 요구되어지므로 전분과 셀룰로스보다 용출 지연 효과가 우수했던 미네랄(탄산칼슘)이 가장 적절한 것으로 판단되었으며, 매트릭스 형성제의 함량별 원제 방출특성 비교시험에서 방출 속도 조절제로 탄산칼슘을 선발하였다.

방출 속도 조절제의 함량별 원제 방출특성 비교시험

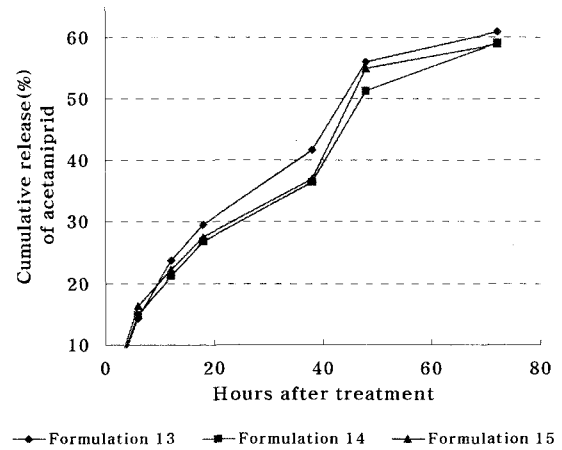


Fig. 6. Release profile of acetamid(a.i.) from the granular formulations prepared with wax and calcium carbonate into water static condition at 25°C.

선발된 방출 속도 조절제인 탄산칼슘의 최적 함량을 검토하기 위해 처방 13, 14, 15와 같이 입제를 제조하여 수중용출성을 비교하였다(Table 3). 그 결과, 탄산칼슘의 함량이 30%보다 40%에서 원제의 수중용출율이 낮게 나타났으며, 탄산칼슘을 50%로 사용하였을 때가 40%로 사용했을 때 보다 원제의 수중용출율이 낮게 나타났으며 그 차이는 미흡하였다(Fig 6). 따라서 매트릭스 형성제의 함량별 원제 방출특성 비교시험에 방출 속도 조절제인 탄산칼슘의 함량을 40% 사용하였다.

매트릭스 형성제의 함량별 원제 방출특성 비교시험

상기의 시험을 통하여 선발된 방출 속도 조절제인 미네랄을 이용하여 최적의 매트릭스 형성제의 함량을

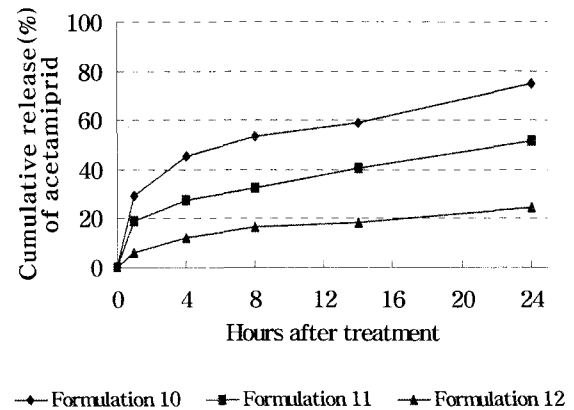


Fig. 7. Release profile of acetamid(a.i.) from the granular formulations prepared with calcium carbonate and wax into water static condition at 25°C.

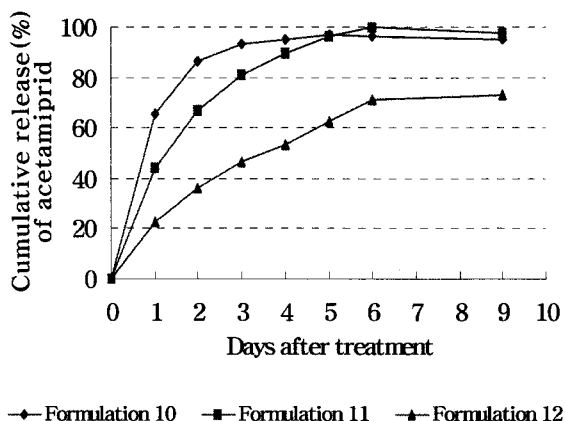


Fig. 8. Release profile of acetamiprid(a.i.) from the granular formulations prepared with calcium carbonate and wax into water static condition at 25°C.

선발하고자, 방출 속도조절제인 탄산칼슘의 양을 40%로 고정하고 매트릭스 형성제인 폴리에틸렌왁스의 함량을 2, 10, 20%로 조절하여 서로 다른 수중용출율을 갖는 서방형 입제(처방10, 11, 12)를 제조하여(Table 3) 최적의 매트릭스 형성제의 함량을 선발하고자 하였다. 24시간까지 일정시간 마다 시료를 채취하여 수중용출성 시험을 해 본 결과, 24시간에 acetamiprid의 수중용출율이 75, 50, 25%인 입제를 얻을 수 있었다(Fig 7). 또한 처방10, 11, 12를 9일간 원제의 수중용출율을 조사한 결과, 처방10의 경우 3일째 acetamiprid가 거의 방출되었으며 처방11의 경우 6일째 acetamiprid가 모두 용출되었으나 매트릭스 형성제인 폴리에틸렌왁스의 함량이 20%인 처방12의 경우는 6일까지 70% 정도 방출되었고 9일째에도 수중용출율이 73% 정도로 방출되어 원제의 수중용출율 가장 많이 지연시켰다(Fig 8). 따라서 왁스의 함량에 따라 서로 다른 원제의 방출양상을 보임을 확인할 수 있었다.

독성 평가

Acetamiprid 2% 입제의 제조처방 중 처방12와 원제에 대하여 급성경구독성시험과 급성경피독성시험을

실시한 결과는 Table 4와 같다. 급성경구독성시험의 경우, acetamiprid 원제는 SPF mice(ICR 계)에서 반수치사약량(LD50, mg/kg)이 184 mg/kg으로 나타났으나, acetamiprid 2% 입제(처방12)는 >2,500 mg/kg으로 독성분류상 저독성(IV급)으로 분류되었다. 또한, SPF rats(SD계)를 이용한 급성경피독성시험의 경우 acetamiprid 원제와 acetamiprid 2% 입제(처방12) 모두 반수치사약량(LD50, mg/kg)이 >2,000 mg/kg으로 독성분류상 저독성(IV급)으로 분류되어 선발된 acetamiprid 2% 입제(처방12)는 상용화 하는데 문제가 없을 것으로 판단되었다.

결국 수용해도가 높은 acetamiprid의 경우, 폴리에틸렌왁스를 적절한 방출 속도 조절제와 함께 적절히 사용하면 독성 및 작물의 생육 특성에 적합한 약제의 개발이 가능할 것이다. 따라서 초기약해에 대해 안전하고 장기간 동안 우수 약 효를 확보할 수 있으며, 이를 통하여 농약 사용량을 줄이고 노동력을 절감할 수 있는 환경 친화적인 방출조절형의 입제를 상용화할 수 있음을 확인하였다.

인용문헌

Neogi, A. H. and G. G. Allan (1974) Controlled-Release Pesticides: concepts and realization. pp.195, In Controlled Release of Biologically Active Agents(eds. A. C. Tanquary and R. E. Lacey, Plenum Press, New York, U.S.A.

Fernandez-Perez, M., E. Gonzalez-Pradas, M. D. Urena-Amate, R. M. Wilkins and I. Lindup. (1998) Controlled release of imidacloprid from a lignin matrix: water release and soil mobility study. J. Agric. Food Chem. 46: 3828~3834.

Kearney, P. C. (1997) ACS Symp. Ser, No. 53: 30

Wilkins, R. M. (1990) Biodegradable polymer methods. in Controlled Delivery of Crop-Protection Agents, Taylor and Francis, Bristol, PA. pp. 149~160.

Table 4. Acute toxicity of the insecticide acetamiprid technical used in this study and the granular formulation against mice and rats

Classification	A.I. (%)	Acute Oral		Acute Dermal	
		Test animal(Strain)	LD ₅₀ (mg/kg)	Test animal(Strain)	LD ₅₀ (mg/kg)
Technical	100	mice(ICR)	184	rats(SD)	> 2,000
Formulation code12	2	mice(ICR)	> 2,500	rats(SD)	> 2,000

김효열, 윤진상, 구본철, 백성호, 오별렬, 박승순, 김영구, 오경석 (1996) 방출조절형농약제제. 한국특허출원번호 10-1996-0057351
 농촌진흥청(2003). 농약의 등록시험 기준과 방법-독성 시험 기준과 방법. 농촌진흥청고시 제 2003-7호

정영호, 김장억, 김정한, 이영득, 임치환, 허장현 (2000) 최신 농약학. pp. 4~7. 시그마프레스. 한국
 岡野定輔(1984) 신약제학총론(新藥劑學總論). pp.262. 남강당(南江堂), 일본

Chemical and toxicological properties of controlled release granular formulations of acetamidrid using wax matrix

Weon-kee Lee*, Kyung-hyung Yang, Chang-hyuk Lee, Seung-il Lee¹, In-Cheon Hwang(Central Research Institute, Kyung Nong Co., Gyeong-Ju 780-110, Korea, and ¹Department of Friendly Environmental Agro-technology, Sorabol college, Gyeong-ju 780-711, Korea)

Abstract : The chemical and toxicological studies were conducted with acetamidrid 2% granules including different controlling agents for development of controlled-release acetamidrid 2% granule. The fundamental formulation recipe of acetamidrid 2% granule was prepared by the insoluble matrix using polyethylene wax. Starch, cellulose and mineral (calcium carbonate) were used as controlling agents. As a result of studies, release rate of active ingredient from granules into water static condition at 25 °C was increased by addition of starch and cellulose, but was decreased by addition of calcium carbonate. We could select calcium carbonate as controlling agent and make three granules which there were difference in release profiles of active ingredient according to contents of polyethylene wax. 24 hours-release rates of acetamidrid from three granules into water static condition at 25 °C were respectively 75, 50 and 25% when contents of wax were 2, 10 and 20%. The granule which 24 hours-release rate was 25% showed lower acute toxicity against mice and rats.

Key words : controlled-release granule, controlling agent, wax matrix, acetamidrid.

*Corresponding author (Fax : +82-54-776-0139, E-mail : wklee@knco.co.kr)