

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2004-527564  
(P2004-527564A)

(43) 公表日 平成16年9月9日(2004.9.9)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)
AO 1 N 25/28	AO 1 N 25/28	4 H O 1 1
AO 1 N 63/00	AO 1 N 63/00	B

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 48 頁)

<p>(21) 出願番号 特願2002-586729 (P2002-586729)</p> <p>(86) (22) 出願日 平成14年4月18日 (2002.4.18)</p> <p>(85) 翻訳文提出日 平成15年10月30日 (2003.10.30)</p> <p>(86) 国際出願番号 PCT/US2002/012068</p> <p>(87) 国際公開番号 W02002/089576</p> <p>(87) 国際公開日 平成14年11月14日 (2002.11.14)</p> <p>(31) 優先権主張番号 09/847,464</p> <p>(32) 優先日 平成13年5月2日 (2001.5.2)</p> <p>(33) 優先権主張国 米国 (US)</p>	<p>(71) 出願人 500467390 スリーエム イノベイティブ プロパティズ カンパニー アメリカ合衆国, ミネソタ 55133-3427, セント ポール, ビー.オー. ボックス 33427, スリーエム センター</p> <p>(74) 代理人 100099759 弁理士 青木 篤</p> <p>(74) 代理人 100077517 弁理士 石田 敬</p> <p>(74) 代理人 100087413 弁理士 古賀 哲次</p> <p>(74) 代理人 100082898 弁理士 西山 雅也</p>
---	---

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 安定性ヒドロゲルマイクロビーズ内に固定化される活性物質

(57) 【要約】

コアセルベートシェル内に封入されたフェロモンを含むマイクロビーズが提供される。コアセルベートシェルは、化学架橋なしにヒドロゲルマイクロビーズ内に取り込まれる。本発明のマイクロビーズは、脱水および再水和してフェロモンを意図される環境内に放出できる。

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

a) 複合コアセルベーションによってマイクロカプセルを形成できる第 1 のポリマーと、フェロモンと、第 1 のポリマーを含む組成物と共に複合コアセルベーションによってマイクロカプセルを形成できる第 2 のポリマーとを含む溶液を提供するステップと、  
b) コアセルベーションシェルを有するマイクロカプセルを前記シェルの化学架橋なしに形成するステップと、  
c) ヒドロゲルマイクロビーズを形成するのに適する第 3 のポリマーをマイクロカプセル含有組成物を形成するのに効果的な量で添加するステップと、  
d) マイクロカプセル含有組成物を配位溶液中にスプレーすることにより、化学架橋なしにコアセルベーションシェルを有するマイクロカプセルを含む安定性ヒドロゲルマイクロビーズを提供するステップと  
を含む、フェロモンを封入する方法。

10

## 【請求項 2】

ステップ c) の第 3 のポリマーが、ステップ b) のマイクロカプセルが形成される前に添加される、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

フェロモンが、特定の害虫のためにあらかじめ選択された活性成分の配合物である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 4】

ヒドロゲルマイクロビーズが天然ポリマーを含む、請求項 1 に記載の方法。

20

## 【請求項 5】

第 1 のポリマーがカチオン性である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 6】

第 2 のポリマーがアニオン性である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 7】

第 3 のポリマーがアニオン性である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 8】

請求項 1 に記載の方法によって製造される、ヒドロゲルマイクロビーズ。

## 【請求項 9】

マイクロカプセルを含むフェロモン含有ヒドロゲルマイクロビーズであって、前記マイクロカプセルがアルデヒド、ケトン、または酸で架橋されていないコアセルベートシェル内に封入されたフェロモンをさらに含み、前記マイクロカプセルがヒドロゲル複合体内に取り込まれる、ヒドロゲルマイクロビーズ。

30

## 【請求項 10】

a) 複合コアセルベーションによってマイクロカプセルを形成できる第 1 のポリマーと、フェロモンと、第 1 のポリマーを含む組成物と共に複合コアセルベーションによってマイクロカプセルを形成できる第 2 のポリマーとを含む溶液を提供するステップと、  
b) コアセルベーションシェルを有するマイクロカプセルを前記シェルの化学架橋なしに形成するステップと、  
c) ヒドロゲルマイクロビーズを形成するのに適する第 3 のポリマーをマイクロカプセル含有組成物を形成するのに効果的な量で添加するステップと、  
d) マイクロカプセル含有組成物を配位溶液中にスプレーすることにより、化学架橋なしにコアセルベーションシェルを有するマイクロカプセルを含む安定性ヒドロゲルマイクロビーズを提供するステップと、  
e) 前記ヒドロゲルマイクロビーズを意図される環境内で基材上にデリバリするステップと  
を含む、フェロモンを保持してデリバリする方法。

40

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

50

## 【0001】

本発明は、ヒドロゲルマイクロビーズを使用した、活性物質の封入、固定化、および放出の組み合わせに広く関する。具体的には活性物質は、コアセルベートシェル内に封入され、親水性マイクロビーズ内に固定化される。

## 【背景技術】

## 【0002】

果樹園、農作物、および森林から望まれない害虫を駆除する方法は、有機リン酸塩殺虫剤の使用を伴うことが多い。代案の方法は、昆虫フェロモンを使用して害虫を制御し農作物を保護する昆虫交尾攪乱を伴う。昆虫交尾攪乱法では、雌昆虫の交尾フェロモン噴煙柱が、その他のフェロモン点源で典型的にマスクされる。これによって雄昆虫が雌を見つける可能性が低下し、次いで攪乱され幼虫発生量が減少する。このようにして次世代の昆虫個体数が減少し、作物の被害の見込みも減少する。

10

## 【0003】

従来のスプレーできるフェロモン調合物は、概して活性物質を有する液体充填マイクロカプセル内に提供される。典型的にマイクロカプセルは、イソシアネートおよびアミンを必要とする界面法を使用して形成できる、ポリ尿素シェルを有する。この方法によるマイクロ封入は、例えばネスビット (Nesbitt) らの米国特許番号第 4,487,759 号明細書に記載されている。これらのポリ尿素シェルはほとんどの昆虫フェロモンについて、合わせて最高 2 ~ 3 週間活性物質が大気中に放出されるようにする。ポリ尿素カプセルのシェルは概して半透性であるため、活性物質はシェルを超えて拡散し、経時的に緩慢に放出されることができ、潜在的に封入製品のデリバリまたはスプレー時に、高濃度の活性物質が空気中に直ちに観察できる。これはカプセル破裂の高い発生率または潜在的なマイクロカプセルの漏れに起因するかもしれない。

20

## 【0004】

ガードナー (Gardner) の米国特許第 4,532,123 号明細書は、第 2 のシェルにさらに封入されて二次カプセルを作り出す、一次カプセル内の医薬品活性物質を含有するカプセルを教示する。二次カプセルのカプセル内液体コアは酵素を含有して、一次カプセルのシェルを緩慢に加水分解する。この緩慢な加水分解によって、制御されたデリバリのために、一次カプセルからより大きなカプセルのコアへの活性物質の緩慢な放出ができるようになる。

30

## 【0005】

日本国特許第 JP 8-173794 号明細書は、ポリメチルメタクリレートシェルの小型カプセル内のアミン封入を教示する。これらのカプセルは、エポキシ-アミンポリマーシェル内にさらに封入される。同様に極小カプセル内のアミンはより大きなカプセルのコア内に放出され、ポリマーシェルの破裂時に究極的にアミンがデリバリされる。

## 【0006】

医薬品、殺虫剤、および除草剤などの物質を封入するための界面縮合の使用は、バンデガー (Vandegaeer) の米国特許第 3,577,515 号明細書で教示されている。封入工程には、攪拌によって片方が他方に分散される 2 つの不混和性液体相 (典型的に水および有機溶剤)、および引き続くバルク (連続) 相と分散された滴液との界面における各相からのモノマーの重合が必要である。ポリウレタンおよびポリ尿素は、マイクロカプセルを製造するのに適した材料である。使用されるモノマーと溶剤次第で、マイクロカプセルは、直径が 30  $\mu\text{m}$  ~ 2 mm の範囲であるポリマー球および液体中心を含む。

40

## 【0007】

高度に粘稠性かつ濃化されたヒドロゲルは、フェロモン、香水、およびその他の水不溶性活性物質をデリバリするために使用されている。スティア (Steer) の米国特許第 4,755,377 号明細書では、香料または芳香性材料を水性ゲル組成物内に封入する方法について記載している。得られた材料は、高度に粘稠性の半流動性の形態である。ヘンダーソン (Henderson) らの米国特許第 5,645,844 号明細書は、材料がコーキングガンなどの器具によってディスペンズできる、昆虫交尾を攪乱するフェロモン

50

のデリバリのためのキトサンペーストの使用について記載している。しかし濃化され高度に粘稠性であるため、これらの材料は概してスプレーできない組成物である。

【0008】

ほとんどのヒドロゲルは、人間に対して安全かつ無毒である。ヒドロゲルは、調合物が、細胞、タンパク質、および関連材料の生存性に対して非致命的である、生物学的材料の封入のために使用されている。グーセン (G o o s e n) らの米国特許第 4, 6 8 9, 2 9 3 号明細書は、生体組織または細胞を封入する方法について記載している。封入シェルは材料および酸素の細胞への通過を可能にし、ゲルからの代謝副産物の拡散を可能にする。

【0009】

コアセルベーション法は、ノーカーボン複写紙カプセル、そしてロイコ染料、薬剤、着香料、および香水の封入などの用途のために技術分野で周知である。グリーン (G r e e n) の米国特許第 2, 8 0 0, 4 5 7 号明細書では、多孔性であり、架橋ステップが pH 9 ~ 1 0 で実施されると孔が締まるゲル化コロイドを開示する。

【0010】

コアセルベートマイクロカプセルを架橋するその他のアプローチでは、非アルデヒド架橋剤を用いている。シュノーリング (S c h n o r i n g) の米国特許第 4, 4 0 2, 8 5 6 号明細書では、天然および/または合成なめし剤およびカルボニル化合物を使用して、ゼラチンマイクロカプセルを硬化させることを開示する。京極 (K y o g o k u) らの米国特許第 5, 0 2 3, 0 2 4 号明細書では、イリドイド類の天然化学物質、具体的にはゲニピンの使用を開示している。デイビッド (D a v i d) らの米国特許第 5, 0 5 1, 3 0 4 号明細書でも架橋剤としてのタンニン酸の使用が開示されている。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

上述のアプローチは、コアセルベートシェルを特定条件下で架橋するのに満足できることが立証されているが、より環境に優しく、有毒架橋剤を使用せず、開示されたものよりも費用効率が高いコアセルベートシェルを提供する必要性がなおもある。

【課題を解決するための手段】

【0012】

本発明は、

- a) 複合コアセルベーションによってマイクロカプセルを形成できる第1のポリマーと、フェロモンと、第1のポリマーを含む組成物と共に複合コアセルベーションによってマイクロカプセルを形成できる第2のポリマーとを含む溶液を提供するステップと、
  - b) コアセルベーションシェルを有するマイクロカプセルを前記シェルの化学架橋なしに構築(形成)するステップと、
  - c) ヒドロゲルマイクロビーズを形成するのに適する第3のポリマーをマイクロカプセル含有組成物を形成するのに効果的な量で添加するステップと、
  - d) マイクロカプセル含有組成物を配位溶液中にスプレーすることにより、化学架橋なしにコアセルベーションシェルを有するマイクロカプセルを含む安定性ヒドロゲルマイクロビーズを提供するステップと
- を含む、フェロモンを封入する方法を提供する。

【0013】

本発明の別の態様は、上のステップc)の第3のポリマーが、ステップb)のマイクロカプセルが構築する前に添加される、フェロモンを封入する方法である。

【0014】

本発明は、上に挙げた方法によってコアセルベートシェル内に封入されるフェロモンも提供する。

【0015】

ヒドロゲルマイクロビーズは好ましくは親水性であり、水溶性または水不溶性のいずれであっても、広範囲のマイクロ封入された活性物質を固定できる。

10

20

30

40

50

## 【0016】

本発明の一態様では、ヒドロゲルマイクロビーズを水溶性マイクロカプセル含有材料から製造して、環境に優しいマイクロビーズを提供しても良い。マイクロビーズを接着剤で被覆して、意図される環境における適用を改善しても良い。

## 【0017】

さらに別の発明の態様では、マイクロビーズが最初の脱水後に再水和され、活性物質を放出できても良い。このようにして、マイクロビーズがデリバリされた環境の湿度を調節することで、フェロモンの放出および寿命は制御できる。

## 【発明を実施するための最良の形態】

## 【0018】

本発明は、コアセルベートシェル内に封入されるフェロモンを提供し、それは次にコアセルベートシェルを化学的に架橋する中間ステップなしに、ヒドロゲルマイクロビーズ内に取り込まれる。本発明の目的では、化学架橋とは共有結合によって形成される2つのポリマー間の架橋である。したがって本発明は、潜在的に環境に優しくない化学物質の使用なしに、ヒドロゲルマイクロビーズ構造体からのフェロモンの効果的なデリバリを提供することで、例えばグルタルアルデヒド、ホルムアルデヒド、およびタンニン酸などの化学物質の使用を回避する。本発明はさらに、マイクロカプセルからのフェロモンの時期尚早な放出の発生を低減する。本発明は、またヒドロゲルマイクロビーズ内に取り込まれていないコアセルベートシェルが形成するマイクロカプセルと比較して、コアセルベートシェルからのフェロモン放出を遅延および/または延長させる。ヒドロゲルマイクロビーズ内に取り込まれていない、非架橋コアセルベートマイクロカプセルは、典型的に不安定である。「不安定」とは、コアセルベートマイクロカプセルが、フェロモンを封入するための形態または形状を欠くために、意図される環境にフェロモン材料をデリバリする目的に適さなくなることの意味する。

10

20

## 【0019】

人に対する殺虫剤毒性およびその他の環境への懸念に対する関心の高まりを考慮すると、長期の放出寿命を有し、並びに封入されたシェルと、無毒で生分解性のヒドロゲルマイクロビーズとの双方を有する、フェロモンデリバリシステムを提供することは有利であろう。また広範囲のフェロモン材料に適用できる、スプレー可能で長持ちするフェロモンデリバリのためのシステムを提供することで、1つ以上のシェル構成要素に対するフェロモンの反応性の問題を排除することも有利であろう。

30

## 【0020】

本発明の方法は、アセテート、アルデヒド、ケトン、アルコール、エステル、エポキシ、エーテル、またはそれらの組み合わせなどの官能基を持つフェロモンを封入するのに使用できる。フェロモンは自然に生成される場合、動物種の一員によって分泌され、同一動物種の他の構成員の挙動または発育に影響を与えられる化合物として定義しても良い。フェロモンは種特異性であるので、昆虫の挙動変更のためのフェロモンの適用は非ターゲット害虫に対しては最小の効果を有する。昆虫の挙動変更のために提供されるフェロモンは、雌のフェロモン噴煙柱と競合する、またはそれをカムフラージュする、フェロモンの放出点源によって「配偶者発見過程」を妨害する。この後者のタイプの作用は、化学殺虫剤あるいは昆虫成長調節剤またはホルモンとは異なり、フェロモンは、現世代の昆虫でなく将来の世代をターゲットとする。フェロモンは非常に種特異性であり少量のみが使用されるので、それらの使用は殺虫剤の全面散布よりも環境的に許容できる。

40

## 【0021】

多くのフェロモンは、例えばアセテートやホルメート基などのエステル末端基を有する。典型的にこれらの物質は水不混和性であり、既知の方法によるこれらのマイクロカプセル内への組み込みは、特に問題ではない。ヒドロゲルマイクロビーズ内に封入して固定化できる追加的なフェロモンとしては、アルデヒド、エステル、アルコール、エポキシ化合物、エーテル、ケトン、またはそれらの組み合わせが挙げられる。本発明は特に、例えばカルボニル基が芳香環の二重結合と共役するアセトフェノンのようなカルボニル基の二重結

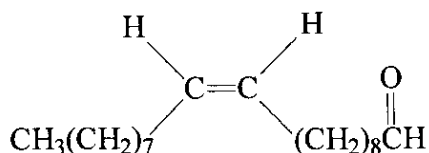
50

合が1つ以上の二重結合と共役する、反応性ケトンを含むフェロモンのデリバリに有利である。

【0022】

本発明で有用なフェロモンは、好ましくは昆虫フェロモンである。フェロモン構造の説明において、以下の記号を使用する。タイプ（E（トランス）またはZ（シス））および二重結合（群）の位置を最初に記載し、次に鎖内の炭素原子数、そして末端基の性質を最後に記載する。例としてフェロモンZ-10 C19アルデヒドは、構造、

【化1】



10

を有する。

【0023】

フェロモンは、混合物の1構成要素が優位を占める、または少なくとも顕著な構成要素である、化合物の混合物であることができる。部分的に水混和性である昆虫フェロモンの顕著な、または優勢な構成要素としては（ターゲット種は括弧内）、例えばE/Z-11 C14アルデヒド（Eastern Spruce Budworm）、Z-10 C19アルデヒド（Yellow Headed Spruce Sawfly）、Z-11 C14アルコール（Oblique Banded Leafroller）、Z-8 C12アルコール（Oriental Fruit moth）、E, E-8, 10 C12アルコール（コドリング）、E-11 C14アルコール（Tufted Apple Budmoth）、E-11 C14アセテート（Sparganothis Fruitworm）、Z-11 C14アセテート（Blackheaded Fireworm）、Z-9 C12アセテート（Grape Berry Moth）、Z-11 C14アセテート（Leafroller）、E/Z-4 C13アセテート（Tomato Pinworm）、Z, Z/Z, E-7, 11-C16アセテート（Gossyplure）、Z-8-C12アセテート（Oriental Fruit Moth）、Z/Z-3, 13 C18アセテート（Peach Tree Borer）、E, Z/Z, Z-3, 13-C18アセテート（Lesser Peach Tree Borer）、および7, 8-Epoxy-2-メチル-C18（マイマイガ）などが挙げられる。

20

30

【0024】

フェロモンであるケトンの例は、セマダラコガネに対して効果的であるEまたはZ 7-テトラデセン-2-オンである。フェロモンではないが価値のあるエーテルは、松の木をキクイムシ類（Southern pine beetle）にとって魅力のないものにするのに使用できる4-アリルアニソールである。

40

【0025】

任意に、香料、香水、着香料、共誘引物質などをはじめとする、その他の化合物を本発明のマイクロカプセル内に含めても良い。

【0026】

任意に、油吸収剤をフェロモン液滴に組み込むことができる。これらの吸収剤は、マイクロカプセル内にフェロモン液滴を保持するのを助けることができ、より長持ちする調合物が得られる。代案としては、この目的のために粘土およびデンプンが使用できる。

【0027】

50

本発明のマイクロカプセル内のフェロモン濃度は、ヒドロゲルマイクロビーズが、なおも強力な破裂抵抗性の網目状組織を提供し、意図される環境内に有効量のフェロモンをデリバリできるようなレベルでなくてはならない。したがってフェロモンは好ましくは、マイクロビーズ総重量の約0.1重量%~約60重量%の間の量で存在する。より好ましくは、マイクロビーズ内に存在するフェロモンの量は、約0.2重量%~約40重量%の間、そして最も好ましくは約0.3重量%~約20重量%の間である。

**【0028】**

本発明は、一つにはコアセルベートマイクロカプセルまたはシェル内のフェロモンの封入に関する。従来のコアセルベートシェルは、架橋剤を使用してフェロモン材料封入シェルを硬化する。本発明のコアセルベートシェルは、アルデヒド、ケトンまたは酸などの潜在的に有毒または望ましくない架橋剤を使用することなく、安定である。ヒドロゲルマイクロビーズ内に取り込まれていない非架橋コアセルベートマイクロカプセルは、典型的に不安定である。典型的な架橋剤は毒性を有し、あるいは環境にあまり優しくないと見なされる。本発明の利点は、潜在的に有毒または望ましくない化学架橋剤の使用を避ける能力である。

10

**【0029】**

コアセルベートシェルは、典型的に、反対に荷電した2つのコロイドの中和から帰結する相分離によって形成される。本発明のコアセルベートシェルを形成するのに使用できる典型的なコロイドとしては、カチオン性ポリマーおよびアニオン性ポリマーが挙げられる。コアセルベーションのために使用できるカチオン性ポリマーとしては、ゼラチン、キトサン、ポリ(ヘキサメチレン-コ-グアニジン)、およびポリ-L-リジンなどが挙げられる。アニオン性ポリマーとしては、アラビアゴム、アカシアガム、アルギン酸塩、カルボキシメチルセルロース、エチレン無水マレイン酸(EMA)、ゼラチン、カラゲナン、ポリ(アクリル酸)、ペクチン、血清アルブミン、デンプン、およびポリリン酸塩などが挙げられる。好ましくは本発明のコアセルベートシェルは、ゼラチンおよびアルギン酸塩またはアラビアゴム、あるいはそれらの組み合わせを含む。

20

**【0030】**

本発明はさらに、フェロモンをヒドロゲルマイクロビーズ内に封入するコアセルベートシェルを固定することを伴う。この固定化は、このようにして保護的マイクロビーズフォーマットに封入されたフェロモンを提供する。マイクロビーズを溶液内に懸濁して、システムが長期の放出期間を提供できる、フェロモンのためのデリバリシステムを提供できる。マイクロビーズは、例えばスプレーデリバリ中に生じるような外圧からの物理的保護をマイクロカプセルに提供する。これは次に、時期尚早なカプセル破裂を最小化して、フェロモン(群)放出期間を延長する。親水性マイクロビーズを脱水すると、フェロモンを含有するマイクロカプセルは、マイクロビーズ内に固定化されたままである。次にフェロモンは、カプセルシェルを通じた拡散と、それに続く親水性マイクロビーズを超えた、または通じた拡散によって、所望の環境内に放出されることができ。

30

**【0031】**

シェルの化学架橋なしにコアセルベーションシェルを有するマイクロカプセルは、従来の複合コアセルベーション工程を通じて構築される。この工程では、第1のポリマーと、第1のポリマーと共にコアセルベーションシェルを形成できる第2のポリマーとを混合する。この工程では2つのポリマーは、pH、温度、希釈などの環境の変化に応じてコアセルベートを形成する。典型的に第1および第2のポリマーの各溶液は、それぞれの電荷を有する。ここでの用法で「電荷」とは、ポリマーおよびフェロモンを含有する封入組成物をpHまたはその他の環境操作によって調節すると、シェルが化学架橋なしにコアセルベーションシェルを有するマイクロカプセルを構築するように、ポリマーが相互作用するように、ポリマーの官能価に関連している。コアセルベーションの手順は当業者の認識範囲内である。

40

**【0032】**

次に好ましくは希釈によって、カチオン性およびアニオン性ポリマー組成物に、複合体形

50

成を引き起こす。場合によっては、組成物のpHを調節する必要があるかもしれない。pHまたはその他の環境条件を調節するのに先だって、フェロモン液滴が水性連続相内に分布して、コアセルベートシェルが液滴周囲に形成できるようにすることで、比較的均一で円形または楕円形のフェロモン含有マイクロカプセルが形成するように、組成物を混合しても良い。この希釈および/またはpH調節によって、組成物のゲル化点以下に温度が低下するに連れて、油性フェロモン周囲にゲルが形成するようになる。

#### 【0033】

本発明のヒドロゲルマイクロビーズは、典型的に上述のコアセルベートマイクロカプセルを取り込む。本発明のマイクロビーズは、マイクロカプセル含有材料およびフェロモンを含んでも良い。ヒドロゲルマイクロビーズは、好ましくは親水性でもある。攪拌の程度および範囲、並びにマイクロビーズを形成するのに使用される界面活性剤のタイプは、マイクロビーズ内のマイクロカプセルのサイズおよび分散度に影響できる。マイクロビーズ内に取り込まれるマイクロカプセルは、直径が好ましくは約0.01nm~約300,000nmである。より好ましくはマイクロカプセルは、直径が約0.5nm~約200,000nmである。

10

#### 【0034】

本発明でヒドロゲルマイクロビーズを製造するために有用なマイクロカプセル含有材料は、生体適合性、水溶性でペンダントの官能基を有し、イオン(例えば多価のカチオンおよび/またはアニオン)との複合体をなして、ヒドロゲルを形成する。マイクロカプセル含有材料の官能基としては、例えばカルボキシル、ヒドロキシル、一次または二次アミン、アルデヒド、ケトン、エステル、およびそれらの組み合わせが挙げられる。好ましくは親水性マイクロカプセル含有材料は、アルギン酸塩、キトサン、ガム、寒天、カラゲナンなどの天然多糖類から製造でき、あるいはマトリックスは、例えばポリビニルアルコール、ポリ(N-イソプロピルアクリルアミド)、アクリルアミド、アクリレート、およびメタクリレート、あるいはそれらの組み合わせなどの合成水溶性モノマー、オリゴマーまたはポリマーから製造できる。

20

#### 【0035】

適切な天然多糖類としては、アルギン、ペクチン、およびヒアルロン酸の水溶性塩と、ポリグルクロン酸、ポリマヌロン酸、ポリリイガラクトン酸、およびポリアラビン酸の水溶性塩またはエステルと、ガム-カラゲナンとが挙げられる。好ましい多糖類は、アルギン酸のアンモニウム、マグネシウム、カリウム、ナトリウムおよびその他のアルカリ金属塩であり、最も好ましい多糖類はアルギン酸ナトリウムである。

30

#### 【0036】

「アルギン酸塩」は、アルギン酸とその塩に対して与えられた一般名である。アルギン酸塩は、D-マンノシルウロン酸(マンヌロン酸-「M」)およびL-グルピラノシルウロン酸(グルロン酸-「G」)残基から構成される。フェロモン液滴を固定するのに使用されるアルギン酸塩は、適切なマイクロビーズが確実に形成し、保存およびデリバリ適用中のマイクロビーズが確実に安定しており、マイクロビーズが適切に収縮膨張して、所望のフェロモンを長期間(好ましくは4~6週間)にわたって確実にデリバリできるように、注意深く選択しなくてはならない。好ましくはアルギン酸塩は、形成したマイクロビーズの強度が、スプレーノズルを通した適用中にマイクロビーズにかかる剪断力(条件)に耐えるのに十分で、すなわちマイクロビーズがスプレー適用中に破裂抵抗性であるように選択される。

40

#### 【0037】

マイクロビーズの強度および安定性のためには、アルギン酸塩の分子量およびM:G比を選択して、究極的なマイクロビーズの好ましい特性を得ることが望ましい。マンヌロン酸含量が高いアルギン酸塩は概して濃化用途のために有用であり、一方グルロン酸レベルが高いアルギン酸塩はゲル形成のために使用されることが多いが、双方のアルギン酸塩カテゴリー(個別にまたはそれらの混合物)が、本発明のマイクロビーズのために適する。強度および破裂抵抗性を与える好ましいアルギン酸塩は、例えば約30重量%を超えるよう

50

な高レベルでグルロン酸を有するアルギン酸塩である。過剰なレベルのマンヌロン酸を有するアルギン酸塩組成物からは、高グルロン酸ゲルよりも安定性が低く剛性が低いマイクロビーズが帰結するかもしれない。しかし高マンヌロン酸アルギン酸塩は、膨張して高グルロン酸含量マイクロビーズよりも多くの水を吸収する能力をマイクロビーズに与える。したがって適切なアルギン酸塩を選択するにあたり、MおよびG残基が与える利点の注意深い均衡を考慮しなくてはならない。

【0038】

好ましくは本発明のマイクロビーズで使用されるアルギン酸塩は、約100,000~約2,500,000、より好ましくは約200,000~約1,500,000の範囲の分子量を有する。さらにアルギン酸塩は、好ましくは約0.2~約3.5、より好ましくは約0.3~約1.85の範囲のM:G比を有する。

10

【0039】

高レベルのグルロン酸を有する好ましいアルギン酸は、例えば藻類 *Laminaria hyperborea* の茎、植物全体または葉状体からのアルギン酸塩である。高レベルのマンヌロン酸を有する好ましいアルギン酸としては、例えば *Ascophyllum nodosum* が挙げられる。

【0040】

本発明のヒドロゲルマイクロビーズを形成するゲルマトリックスは、例えばペンダントのカルボキシレート基を持つ多糖類を配位させて形成しても良い。これらの多糖類化合物は、マグネシウムおよびアルカリ金属塩を除いては、アルギン酸の第II族金属塩を含む水不溶性アルギン酸塩を含む。水不溶性アルギン酸塩ゲルは、典型的に水性溶液中における水溶性アルギン酸塩から水不溶性アルギン酸塩への化学転換によって形成する。この転換は通常、水溶性アルギン酸塩と可溶性二価 - または三価 - 金属塩から放出された多価のカチオンとの反応によって達成される。

20

【0041】

水溶性アルギン酸塩としては、アルギン酸のアンモニウム、マグネシウム、カリウム、ナトリウム、およびその他のアルカリ金属塩を挙げることができる。本発明に適する水不溶性二価 - または三価 - 金属塩は、2つの要件を満たさなくてはならない。(1)水不溶性金属塩は、水溶性多糖類のペンダントのカルボキシレート基と複合体をなして、水不溶性多糖類ゲルの形成を引き起こせる二価 - または三価 - 金属イオンを含有する。(2)水不溶性金属塩は水溶性酸と反応して、水溶性金属塩を形成する。

30

【0042】

一般的で適切なアルギン酸塩ゲルは、アルギン酸カルシウムから構成される。

【0043】

アルギン酸カルシウムゲルのゲル化時間は、溶液中の遊離カルシウムイオン濃度を調節することで達成できる。典型的に遊離カルシウムイオン濃度は、カルシウム塩イオン化速度の操作によって、および/または遊離カルシウムイオンと反応するその他の化合物を溶液中に含めることで、制御される。

【0044】

本発明のマイクロビーズを製造する方法は、好ましくはフェロモン充填マイクロカプセルを製造するステップと、親水性マイクロカプセル含有材料中にマイクロカプセル懸濁液を分散するステップとを含む。次に混合物は硬化(ゲル化)されて、マイクロビーズが形成する。得られるマイクロビーズは、はじめに約30%を超える水を有するヒドロゲルマイクロビーズである。フェロモン充填マイクロカプセルを水-ポリマーマイクロビーズ内に分散させ、取り込ませる。

40

【0045】

マイクロビーズ内に取り込まれたマイクロカプセルを有する親水性マイクロビーズは、イオン性相互作用または熱固化のいずれかによって形成できる。イオン性相互作用によってマイクロビーズを形成する際、(1)スプレー法、および(2)乳化法、によって形成する2つの好ましい方法がある。スプレー法では、マイクロカプセル含有混合物を混合し、

50

次に機械的に噴霧して小型球形液滴を形成する。マイクロビーズのサイズは、概してエマルジョン懸濁液固有の特性、送り速度、および同軸気流速度によって支配される。

【0046】

次に噴霧した液滴を直接、反応槽内に自由落下させることができる。反応槽はヒドロゲルが固まるように硬化または固化する。反応槽硬化は、化学的または非化学的手段を通じて達成できる。アルギン酸ナトリウムの場合、カルシウムイオンが使用されてポリマー鎖が配位される。好ましい配位化合物は塩化カルシウムである。

【0047】

本発明の目的では「配位化合物」は、その意図される環境に適用できるように、ヒドロゲルマイクロビーズおよびコアセルベートシェル構造体を与えるのに使用できる、化学物質または化合物に関連している。適切な配位化合物は、好ましくはモノマー、オリゴマー、およびポリマーをはじめとする低分子量無機または有機化合物などの二価および多価イオン性化合物である。適切な配位化合物の例は、アルギン酸塩のためのカルシウム ( $\text{Ca}^{++}$ ) イオンである。

10

【0048】

アルギン酸塩ゲルの形成に使用される配位化合物カルシウムイオンの供給源としては、例えば炭酸カルシウム、硫酸カルシウム、塩化カルシウム、リン酸カルシウム、酒石酸カルシウム、硝酸カルシウム、および水酸化カルシウムが挙げられる。その他の許容可能な配位化合物としては、塩化ランタン、塩化第二鉄、塩化コバルトが挙げられ、一般にはカルシウム ( $\text{Ca}^{++}$ )、銅 ( $\text{Cu}^{++}$ )、バリウム ( $\text{Ba}^{++}$ )、ストロンチウム ( $\text{Sr}^{++}$ ) などの多価カチオンを有するその他の化合物も挙げられる。

20

【0049】

代案としては、乳化法を使用してヒドロゲルマイクロビーズを製造できる。連続相材料の選択において、それは水性マイクロカプセル含有材料と不混和性であることが好ましい。

【0050】

マイクロカプセル含有材料は、好ましくは本発明の実施に使用できる範囲の濃度を有する。濃度は、取り扱いやすさ、ゲル化時間、フェロモン液滴周囲のヒドロゲルマイクロビーズ強度を最適化するように選択されるべきである。例えばアルギン酸ナトリウム溶液は、好ましくは水中に約1～約10%、より好ましくは約1.5～約5%、そして最も好ましくは1～3% (w/v) の濃度で調製されることができる。しかしヒドロゲル剤濃度が高すぎると、溶液は非常に粘稠になり球形マイクロビーズの形成を妨げる。

30

【0051】

代案としては本発明のヒドロゲルマイクロビーズは、例えば選択された配位化合物にマイクロカプセル含有材料溶液を滴下して添加することで形成できる。例えば片方の供給源からヒドロゲル液滴を噴出し、他方の供給源からの配位化合物で液滴を被覆する振動ノズルによって、液滴形成および配位化合物添加が一段法で完了する方法を使用できる。米国特許第4,701,326号明細書は、この方法の使用を教示する。

【0052】

アルギン酸塩が使用されてフェロモンを固定する好ましい態様では、配位溶液は好ましくは1～1000ミリモル、より好ましくは20～500ミリモル、そして最も好ましくは50～100ミリモルの濃度で製造される。濃度範囲は、配位化合物およびマイクロカプセル含有材料の性質次第で調節しなくてはならなかもしれない。

40

【0053】

マイクロカプセル含有材料およびフェロモンは、浸漬、スプレー、液浸、流し込みまたは、一定量の錯化剤を液滴上に付着させるあらゆるその他の方法によって、配位化合物または溶液で処理できる。浸漬では、溶液中の時間は1秒間～24時間、好ましくは1分間～1時間、そしてより好ましくは10～30分間であっても良い。

【0054】

ヒドロゲルマイクロビーズ形成のための温度は、好ましくはフェロモンの損傷または変質を避けるように選択される。例えばアルギン酸塩が使用される好ましい態様では、温度は

50

好ましくは約 1 ~ 約 70 、より好ましくは約 10 ~ 約 40 、そして最も好ましくは約 15 ~ 約 30 の範囲である。

【0055】

フェロモン充填マイクロカプセルを温度設定内で固定するためには、マイクロカプセル含有材料を最初に熱を使って水に可溶化しなくてはならない。加熱温度は、好ましくは約 40 ~ 約 100 の範囲内である。マイクロカプセル含有材料が完全に溶解したら、溶液がゲル固化温度よりも約 5 ~ 約 10 上になるように溶液温度を下げる。次にフェロモン充填マイクロカプセルを含有する懸濁液をマイクロカプセル含有溶液と同様の温度に予熱して、その後、双方の混合物を共に混和して均質に混合する。

【0056】

マイクロビーズを製造するために、溶融マイクロカプセル含有材料をノズルシステムを通して噴霧でき、あるいは油タイプの連続相を使用して乳化できる。スプレー法では、例えば同軸空気を使用して溶融懸濁液を噴霧し、蒸留水を含有する氷浴内に落下させることができる。次にその中にマイクロカプセルを取り込んで、マイクロビーズが形成する。

【0057】

乳化法を使用してマイクロビーズを製造するために、ジャケット付き反応器内で、連続油相を溶融マイクロカプセル懸濁液の温度に予熱する。連続相はあらゆる疎水性の液体であることができる。好ましく最も都合の良い液体は、植物油または鉱物油である。その他の可能な疎水性の液体としては、ヒドロフルオロエーテルと、シロキサンと、またはシクロヘキサンおよびクロロホルムなどの溶剤とが挙げられる。次にミキサーの助けを借りて、マイクロカプセル懸濁液を連続相内で乳化する。所望粒度が得られるまで混合を継続する。次に反応混合物の温度を氷水の温度(約 5 )に下げる。次にその中にマイクロカプセルを取り込んで、マトリックスが形成する。次にデリバリのために溶液中に懸濁するのに先だって、マイクロビーズを濾過して洗浄できる。

【0058】

本発明は、フェロモンが従来の技術によってデリバリおよびスプレーできるように、油溶性フェロモンおよびアルコールフェロモンの十分な固定化を提供できるマトリックスコアを有するマイクロビーズを提供する。親水性マイクロビーズは、好ましくはそして有利なことには、油溶性およびアルコールフェロモンのコアセルベートシェルを固定する能力をヒドロゲルマイクロビーズに与え、フェロモンとその固定化要素間の望まれない反応性のリスクを最小化する。このようにして本発明のマイクロビーズの使用によるフェロモンの固定化は、固定化された材料を不活性または無効にしない。

【0059】

ヒドロゲルマイクロビーズ内にフェロモンを固定するさらなる利点は、ヒドロゲルが湿潤条件下で「膨張」し、乾燥条件下で縮小する能力である。ここでの用法では「膨張」とは、吸水のためにサイズ(容積)が拡大(増大)するマイクロビーズの挙動を表す。これはおそらくフェロモンを固定するのに使用される、マイクロカプセル含有材料の親水性のためである。

【0060】

湿気の存在下、ヒドロゲルマイクロビーズは好ましくは水分を吸収して再水和し、その結果マイクロビーズ内に含有するフェロモンを放出できる。この挙動は循環できる。したがって周囲空気の湿度(または乾燥度)を調節することで、具体的放出期間が概して予測できるように、マイクロビーズからのフェロモン放出速度を制御できる。したがって本発明では、フェロモンをマイクロビーズから応需型に放出可能である。応需型の放出または「インテリジェント放出」は、特定時の放出が好ましい場合に有利であることができる。フェロモンをさらに放出するマイクロビーズの能力は、有効量フェロモンの放出寿命を増大させるかもしれない。好ましくはマイクロビーズは、所望効果を得るのに効果的な量で意図される環境にデリバリされる。例えばその中に取り込まれたフェロモンを有するマイクロビーズは、好ましくは所望領域に交尾攪乱をもたらすような量でデリバリされ、放出は 4 週間を超えて達成され、より好ましくはマイクロビーズは約 6 週間を超えて、そして最

10

20

30

40

50

も好ましくは約8週間を超えて放出することができる。

【0061】

乾燥工程(すなわち脱水)中に、親水性マイクロビーズからの水蒸発の結果、表面フィルム層が形成する。最初にそして使用中に、マイクロビーズは容積に対する表面積の大きな比率によって特徴づけられ、これは使用中にフェロモン拡散速度を維持するのを助ける。このようにして本発明の方法に従って製造されたマイクロビーズはフェロモンを長期間にわたって放出できるので、優れたデリバリシステムを提供することが分かった。さらにフェロモンは水ベースのマイクロビーズ内に分散されるので、環境条件(すなわちUV)からの追加的な保護が提供できる。

【0062】

本発明のマイクロビーズは約5mmまでの直径を有するように製造できることが分かっているが、マイクロビーズが従来のスプレーノズルから確実に容易にスプレーできるように、マイクロビーズ径が約1 $\mu$ m~約1000 $\mu$ m、そしてより好ましくは約1 $\mu$ m~約500 $\mu$ mであることが好ましい。最も好ましくは、従来のノズル内における目詰まりが確実に最小であるように、マイクロビーズ径は約400 $\mu$ m未満である。しかし現在産業で使用されていないより大きなスプレーノズルの出現により、マイクロビーズをもっと大きな直径で提供できることも考えられる。

【0063】

スプレー用途、特に空中スプレーでは、マイクロビーズが溶液(水)内に懸濁したままで、マイクロビーズが懸濁液内で確実に沈下、沈降、または凝固しないようにできることが望ましい。これによってむらのないスプレーカバレッジも確実になる。好ましくは本発明のマイクロビーズは懸濁したままであり、これによって適用中、そして任意に保存中に攪拌する必要性が、たとえ排除されなくとも最小化できる。また本発明のマイクロビーズを含有する懸濁液に、種々の懸濁助剤を含めることができる。適切な懸濁助剤の例としては、ラムサムガム、キサントムガム、ジェランガム、ゼラチン、ペクチン、およびアラビアゴムが挙げられる。

【0064】

マイクロビーズが受ける取り扱いのために、本発明のマイクロビーズはいくらか弾性で、もろくないことが望ましい。例えばスプレー適用中の懸濁液の噴霧によって、放出ノズルのすぐ上流側にある2つの回転穿孔ディスクに、懸濁液が押し通されるかもしれない。マイクロビーズの十分な弾性は、ディスク通過中のマイクロビーズの物理的損傷を最小化する。

【0065】

本発明のマイクロビーズは、好ましくは水性または溶剤ベースの溶液内の懸濁液でデリバリされる。環境的理由そして生物に対する配慮から、水性懸濁液を使用することが好ましい。マイクロビーズが溶液内に確実に懸濁したままであるように、好ましくは懸濁助剤が懸濁液調合物に含まれる。

【0066】

好ましくは懸濁液溶液は、マイクロビーズの分解を避けるために、ナトリウムなどの一価のカチオンを実質的に含まない。好ましい一態様では、本発明のマイクロビーズを含む保存溶液内に、およそ50ミリモルの塩化カルシウムなどの配位化合物濃度が維持される。

【0067】

任意に接着材料を本発明の組成物に含めて、意図される基材へのマイクロビーズ保持を助けることができる。接着材料は、例えば、ラテックスまたは粘着性微小球などの様々な形態で提供できる。ヒドロゲルマイクロビーズに与えられる付着特性は、水性懸濁液内でなお懸濁状態を保ち、凝結または凝固を最小化できるマイクロビーズに帰結しなくてはならない。さらに接着特性を与えるのに使用されるあらゆる接着材料は、粒子の完全性に影響してはならず、マイクロビーズ(群)を溶解または弱化してはならない。

【0068】

本発明の組成物に含めても良い適切な接着材料は、接着剤ラテックスである。接着剤ラテ

10

20

30

40

50

ックスは、技術分野で入手できるあらゆる適切な水分散性接着剤であって良い。農業ビジネスでは、このようなラテックス組成物は、展着剤または拡張剤と称されることが多い。展着剤は非封入される農薬が植物に付着するのを助けるのに使用される。拡張剤は、非封入農薬を適用時に分散するのを助けるのに使用される。好ましい接着剤はアクリレートベースの接着剤である。1つの適するラテックスは、商品名コンパニオン (COMPANION) の下にローム・アンド・ハース (Rohm & Haas) から入手できる。別のものは商品名DPIS-100 (登録商標展着剤/拡張剤) の下にディアポイント・インダストリーズ (Deerpoin Industries) から入手できる。このような接着剤の例は、n-ブチルアクリレート、イソオクチルアクリレートなどの「軟質」モノマーから製造されるポリマー、あるいはイソブチレン、n-ブチルアクリレート、イソオクチルアクリレート、エチルヘキシルアクリレートなどの軟質構成要素から製造される共重合体、およびアクリル酸、アクリロニトリル、アクリルアミド、メタクリル酸、メチルメタクリレートなどの極性モノマーである。非球形ポリアクリレート接着剤は、例えばローム・アンド・ハース (Rohm and Haas) のロープレックス (RHOPLEX) 系列の接着剤のように市販される。好ましくは非球形ポリアクリレート接着剤は、全懸濁液の約10~35重量%の量で存在する。

10

**【0069】**

代案としては、接着剤の粘着性微小球を使用して、本発明のヒドロゲルマイクロビーズが意図される基材に付着するのを助けても良い。粘着性微小球は十分な接着特性を有して所望の接着機能を提供しながらも、マイクロビーズの放出特性を潜在的に阻害することにつながるかもしれないマイクロビーズの完全被覆の危険性はない。マイクロビーズと粘着性微小球の組み合わせは、従来の噴霧器のオリフィスを変更する必要なしに、目詰まりまたは閉塞の問題が最小で適用できる。さらに粘着性 (接着剤) 微小球をマイクロビーズ (調合物) 懸濁液に組み込むことで、マイクロビーズ表面を粘着性にできる。したがってビーズが、例えば群葉および枝などの意図される表面に付着できる。接着性微小球は、特にそれらが中空であれば、いくらかのフェロモンをそれ自体の中に吸収するかもしれない。それによってフェロモン放出の第2の機構が提供される。これによって放出プロフィールの全体的変更、好ましくは向上が帰結する。

20

**【0070】**

好ましくは接着材料は、米国特許第3,691,140号明細書で開示されたような不溶解性、溶剤分散性、溶剤不溶性、本質的粘着性のエラストマー共重合体微小球を含む、アクリレート-またはメタクリレート-ベースの接着剤システムである。代案としてはこの接着剤組成物は、米国特許第5,045,569号明細書で開示されたような、中空、ポリマー、アクリレート、不溶解性、本質的粘着性、溶剤不溶性、溶剤分散性、エラストマー感圧接着剤微小球を含んでも良い。その他の適切な接着剤は、米国特許第5,508,313号明細書で開示されたような、ペンダントの親水性ポリマーまたはオリゴマー部分を有する粘着性微小球である。

30

**【0071】**

代案としては接着剤は、少なくとも1 $\mu$ mの直径を有する、約60~100重量%の中空のポリマー、アクリレート、本質的粘着性、不溶解性、溶剤不溶性、溶剤分散性、エラストマー感圧接着剤微小球と、約0~40重量%の非球形ポリアクリレート接着剤とを含む。中空微小球は、ヨーロッパ特許出願第371,635号明細書の教示に従って製造される。

40

**【0072】**

さらに別の代案は、特定のタイプBゼラチンとマイクロ封入される殺虫剤との会合、特に米国特許第4,436,719号明細書で開示されるような、マイクロカプセル壁内のポリ尿素サブユニットを用いるようなものである。

**【0073】**

本発明の組成物は、例えばゲル化補助剤、保存料、染料、保湿剤、固定剤、乳化剤、増量剤、および多価アルコールとそれらのエステルなどの凍結/融解安定剤をはじめとする1

50

つ以上のアジュバントも含んで良い。これらの材料は、概して組成物の約5重量%未満、典型的に2重量%未満である、それらの延長された機能を達成するのに効果的な量で存在する。

【0074】

光安定剤の組み込みを本発明のマイクロビーズに含めることができる。適切な光安定剤としては、カナダ国特許番号第1,179,682号明細書で開示される三級フェニレンジアミン化合物が挙げられる。光安定剤は、それを水不混和性溶剤中にフェロモンと共に溶解することで組み込める。代案としては光安定剤は、カナダ国特許番号第1,044,134号明細書で教示されるようなマイクロビーズ内に組み込める。

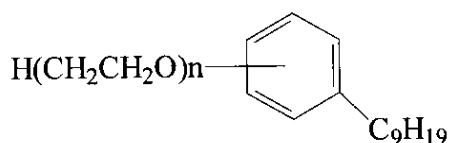
【0075】

マイクロビーズを形成する工程で、界面活性剤を使用しても良い。異なる界面活性剤の組み込みによって、ヒドロゲル内で異なるタイプのフェロモンのマイクロエマルジョン液滴サイズが提供され、並びに反応槽溶液内で失われる遊離油量が決定される。好ましい界面活性剤は、例えば製品名ディスبونイル(DISPONIL)SUSIC 875(CMC、約1%)の下にペンシルベニア州アンブラーのヘンケル(Henkel(Amblerr, PA))から入手できる製品などのように高い臨界ミセル濃度を有する。

【0076】

特に好ましい界面活性剤は、非イオン性である。適切な界面活性剤の例としては、ポリビニルピロリドン(PVP)およびポリ(エトキシ)ノニルフェノールが挙げられる。PVPは使用に便利であり、約20,000~約90,000の範囲の種々の分子量で入手できる。約40,000の分子量を有するPVPが好ましい。ポリ(エトキシ)ノニルフェノールは、エトキシ鎖の長さ次第で種々の分子量で、商品名イジェパル(IGEPALE)の下にニュージャージー州クランベリーのローヌ・プーラン(Rhone-Poulenc(Cranbury, NJ))から市販される。式、

【化2】



(式中、nは約9~約13の平均値を有する。)を有するポリ(エトキシ)ノニルフェノールが使用できる。好ましいポリ(エトキシ)ノニルフェノールは、ニュージャージー州クランベリーのローヌ・プーラン(Rhone-Poulenc(Cranbury, NJ))から商品名イジェパル(IGEPALE)630(630は化合物のおよその分子量を表示する)の下に市販される。適切な界面活性剤の別の例としては、どちらもニュージャージー州ワシントンのBASF(BASF(Washington, NJ))から市販され、商品名プルロニック(PLURONIC)およびテトロニック(TETRONIC)の下に入手できるものなどのポリエーテルブロック共重合体と、デラウェア州ウィルミントンのICI(ICI(Wilmington, DE))から入手できるBRIJ界面活性剤などの脂肪アルコールのポリオキシエチレン付加物と、ステアリン酸、オレイン酸などの脂肪酸エステルなどが挙げられる。このような脂肪酸の例としては、ソルビタンモノステアレート、ソルビタンモノオレート、ソルビタンセスキオレートなどが挙げられる。脂肪エステルのアルコール部分の例としては、グリセロール、グルコシルなどが挙げられる。脂肪エステルは、デラウェア州ウィルミントンのICI(ICI(Wilmington, DE))から商品名ARLACEL Cの下に界面活性剤として市販される。

10

20

30

40

50

## 【0077】

例えば鎖長、官能基、および疎水性領域などの界面活性剤の種々の特性は、マイクロビーズ内に形成するフェロモン液滴のサイズに影響できる。例えばPVP（分子量40,000を有する）の使用は、ポリ（エトキシ）ノニルフェノール（IGEPAL 630）の使用よりも、より大きなサイズのフェロモン液滴の生成に帰結する傾向がある。

## 【0078】

代案としてはイオン性界面活性剤を本発明の方法で使用できる。適切なイオン性界面活性剤の例は、部分的に中和されたポリアクリル酸ナトリウムまたはカリウム、あるいはポリメタクリル酸ナトリウムまたはカリウムなどのポリアクリル酸塩である。

## 【0079】

本発明のマイクロビーズ内に取り込まれたマイクロ封入されたフェロモンは経時的に徐々に放出される。保護されていないマイクロカプセルは、例えばシェルの破裂時にフェロモンを潜在的にほとんど一度に放出できるので、これはフェロモンを衝撃緩和して保護する親水性マトリックスを有さない、従来のマイクロ封入材料で起きる機構のバリエーションである。本発明のマイクロビーズからのフェロモン放出は、好ましくはそして有利なことには、マイクロビーズが位置する環境内の湿度（および乾燥度）を制御することで制御できる。

10

## 【0080】

理論による制限はされないが、フェロモン放出の一機構は、ゲルマイクロビーズからの水蒸発、引き続いてマイクロカプセルシェルを通しての、次に親水性マイクロビーズを通してのフェロモンの拡散を伴うものと考えられる。この機構による放出（拡散）は、フェロモンの遅延放出に帰結することができる。さらに別の仮説的機構では、フェロモンはマイクロビーズから水中に取り込まれ、水が蒸発するにつれてフェロモンが大気中に放出される。

20

## 【0081】

好ましい適用では、これらのヒドロゲルマイクロビーズはスプレーされ、引き続いてゲル内で水が蒸発する。ヒドロゲルビーズが脱水するに連れて、マイクロビーズはサイズが縮小し、そのフェロモンを経時的に放出する。マイクロビーズの元のサイズからの縮小の程度は、調合物内で使用される構成要素に左右される。好ましくはマイクロビーズは元のサイズから約10%～約90%、より好ましくは約40%～約80%、そして最も好ましくは約50%～約70%縮小する。

30

## 【0082】

有利なことに、マイクロビーズは湿気に再暴露すると、水を吸収して膨張し再水和する。湿気への再暴露は、種々のやり方で実施できる。例えばマイクロビーズの表面は、直接、水またはその他の水性溶液と接触できる。フェロモンが使用される農業用途では、農業従事者または管理人は草木および群葉に水をやって、ヒドロゲルマイクロビーズを再水和できる。代案としては、マイクロビーズが位置する環境または周囲空気の湿気が、空気中の連行空気液滴によって増大できる。このようにしてマイクロビーズを再水和によって「再活性化」することで、フェロモン放出時間を選択的に制御できる。

## 【0083】

本発明のマイクロビーズは、種々の方法によって意図される基材にデリバリできる。マイクロビーズを使用したフェロモンデリバリは、例えば所望の放出カバレッジサイズなどの種々の要素に左右される。狭い集中領域では、マイクロビーズは中空繊維、プラスチックラミネートフレック、またはツイストタイに含浸して、次に繊維またはタイを植物に物理的に付着して昆虫の侵襲から保護できる。より大きな領域では、スプレー（空中散布または背負い型による）がより良いオプションかもしれない。

40

## 【0084】

以下の実施例は例証のみを目的とし、本発明の範囲の制限を意図しない。特に断りのない限り、あらゆる部と百分率は重量を基準とする。

## 【実施例】

50

## 【0085】

## 比較例1：コアセルベートマイクロカプセルの調製

タービンかきまぜ羽根を装着した1リットルバッフル付きジャケット付き反応器内に、ニュージャージー州のフィッシャー・サイエンス (Fisher Scientific (New Jersey)) から得られたブルーム300ゼラチンの10重量%水溶液100mLを装入した。溶液を1000rpmで10分間、50 で混合した。ジャケット付き溶液内で、信越化学から得られた油相Z-11テトラデセニルアセテート100gを50 で5分間乳化した。ニュージャージー州のフィッシャー・サイエンス (Fisher Scientific (New Jersey)) から得られた11重量%ガムアカシア溶液90mLをエマルジョンに50 で添加し、2分間混合した。次に50 に予熱した1000mLの水を混合物に導入した。10%炭酸ナトリウム溶液を使用して、pHを約4.4に低下させた。次に混合物の温度を15~25 に下げた。850rpmで絶え間なく混合しながら、混合物をpH約4.4および温度15~25 で約1時間保持した。 Wisconsin州ミルウォーキーのアルドリッチ・ケミカル (Aldrich Chemical (Milwaukee, Wisconsin)) から得られたグルタルアルデヒド溶液約2.6gを混合物に添加して、混合を一晩継続した。形成したコアセルベートマイクロカプセルは、平均径約20 $\mu$ mを有した。

10

## 【0086】

## 実施例2：非架橋コアセルベートマイクロカプセルの調製

タービンかきまぜ羽根を装着した1リットルバッフル付きジャケット付き反応器内に、 Wisconsin州ミルウォーキーのアルドリッチ・ケミカル (Aldrich Chemical (Milwaukee, Wisconsin)) から得られたブルーム275ゼラチンの10重量%水溶液100mLを装入した。溶液を1000rpmで10分間、50 で混合した。 Wisconsin州ミルウォーキーのアルドリッチ・ケミカル (Aldrich Chemical (Milwaukee, Wisconsin)) から得られた50重量%ドデカノール配合物を含有する油相100g、およびテキサス州ヒューストンのコンダエ・ビスタ (Condeavista (Houston, Texas)) から得られたミグリオール (Mygliol) 812Nを50 でジャケット付き溶液内において5分間乳化した。ニュージャージー州のフィッシャー・サイエンス (Fisher Scientific (New Jersey)) から得られた11重量%ガムアカシア溶液90mLをエマルジョンに50 で添加し、2分間混合した。次に50 に予熱した1000mLの水を混合物に導入した。10%炭酸ナトリウム溶液を使用して、pHを約4.4に低下させた。次に混合物の温度を15~25 に低下させた。850rpmで絶え間なく混合しながら、混合物をpH約4.4および温度15~25 に約1時間保った。

20

30

## 【0087】

## 比較例3：ヒドロゲルマイクロビーズ

あらかじめ秤量したアルギン酸塩を既知の容積の蒸留水に溶解して、アルギン酸ナトリウム溶液を最初に調製した。溶液を完全に混合してポリマーを可溶化し、脱気して取り込まれた気泡を除去した。別の250mL容器内で、上の実施例1からの約25%のコアセルベートマイクロカプセル組成物、およびミズーリ州セントルイスのシグマ・ケミカル (Sigma Chemical (St. Louis, Missouri)) から得られた2%多糖類溶液をアルギン酸ナトリウム溶液と混合して懸濁液を製造した。マリンタイプのかきまぜ羽根 (3cm径) を使用して、約300rpmの速度で懸濁液を完全に混合した。次に同軸エアノズル噴霧器を使用して、塩化カルシウム浴 (50mM濃度) 内に、マイクロカプセル懸濁液を微粒子液滴に噴霧した。粒度は噴霧装置の設定によって定まった。生成したヒドロゲルマイクロビーズはサイズが異なり、平均径は約125 $\mu$ mであった。次にこれらのビーズを濾過して、 Wisconsin州ミルウォーキーのアルドリッチ・ケミカル (Aldrich Chemical (Milwaukee, Wisconsin)) から得られた塩化カルシウム溶液50mLおよびニュージャージーのケルコ (Kelco (New Jersey)) から得られた0.4%キサントガム中に再懸濁した。

40

50

## 【 0 0 8 8 】

## 実施例 4：架橋のないヒドロゲルマイクロビーズ

あらかじめ秤量したアルギン酸塩を既知の容積の蒸留水に溶解して、アルギン酸ナトリウム溶液を最初に調製した。溶液を完全に混合してポリマーを可溶化し、脱気して取り込まれた気泡を除去した。別の 250 mL 容器内で、上の実施例 2 からの約 25% のコアセルベートマイクロカプセル組成物、およびミズーリ州セントルイスのシグマ・ケミカル (Sigma Chemical (St. Louis, Missouri)) から得られた 2% 多糖類溶液をアルギン酸ナトリウム溶液と混合して懸濁液を製造した。マリンタイプのかきまぜ羽根 (3 cm 径) を使用して、懸濁液を約 300 rpm の速度で完全に混合した。次に同軸エアノズル噴霧器を使用して、塩化カルシウム浴 (50 mM 濃度) 内に、マイクロカプセル懸濁液を微粒子液滴に噴霧した。粒度は噴霧装置の設定によって定まった。生成したヒドロゲルマイクロビーズはサイズが異なり、平均径は約 125  $\mu\text{m}$  であった。次にこれらのビーズを濾過して、ウィスコンシン州ミルウォーキーのアルドリッチ・ケミカル (Aldrich Chemical (Milwaukee, Wisconsin)) から得られた塩化カルシウム溶液 50 mL およびニュージャージーのケルコ (Kelco (New Jersey)) から得られた 0.4% キサンタンガム中に再懸濁した。

【国際公開パンフレット】

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property Organization  
International Bureau



(43) International Publication Date  
14 November 2002 (14.11.2002)

PCT

(10) International Publication Number  
WO 02/089576 A1

(51) International Patent Classification: A01N 25/34,  
25/28, 37/02, 35/02, 31/02

(21) International Application Number: PCT/US02/12068

(22) International Filing Date: 18 April 2002 (18.04.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data: 09/847,464 2 May 2001 (02.05.2001) US

(71) Applicant: 3M INNOVATIVE PROPERTIES COMPANY [US/US]; 3M Center, P.O. Box 33427, Saint Paul, MN 55133-3427 (US).

(72) Inventor: QUONG, Douglas; P.O. Box 33427, Saint Paul, MN 55133-3427 (US).

(74) Agents: WEISS, Lucy, C. et al.; Office of Intellectual Property Counsel, P.O. Box 33427, Saint Paul, MN 55133-3427 (US).

(81) Designated States (national): AE, AG, AI, AM, AT (utility model), AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ (utility model), DE (utility model), DI, DK (utility model), DM, DZ, EC, EE (utility model), FI, IS, FI (utility model), FI, GB, GD, GH, GI, GM, IR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK (utility model), SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Declarations under Rule 4.17:

— as to applicant's entitlement to apply for and be granted a patent (Rule 4.17(ii)) for the following designations AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, IR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MB, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PI, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW, ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG)  
— as to the applicant's entitlement to claim the priority of the earlier application (Rule 4.17(iii)) for all designations

Published:

with international search report  
before the expiration of the time limit for amending the claims and to be republished in the event of receipt of amendments

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.



WO 02/089576 A1

(54) Title: ACTIVE MATRIAL, IMMOBILIZED IN STABLE HYDROGEL MICROBEADS

(57) Abstract: A microbead comprising pheromone encapsulated in a coacervate shell is provided. The coacervate shell is entrained in a hydrogel microbead without chemical crosslinking. The microbeads of the present invention are capable of dehydration and rehydration to release of pheromone to the intended environment.

WO 02/089576

PCT/US02/12068

**ACTIVE MATERIAL IMMOBILIZED  
IN STABLE HYDROGEL MICROBEADS**

5

Field of the Invention

The invention relates broadly to a combination of encapsulation, immobilization and release of active material using hydrogel microbeads. Specifically, the active material is encapsulated in a coacervate shell and immobilized in a hydrophilic microbead.

10

Background

Methods of eliminating unwanted pests from orchards, crops and forests frequently entail the use of organophosphate insecticides. Alternative methods involve insect mating disruption, where insect pheromones are used to control pests and protect agricultural crop. In insect mating disruption methods, the mating pheromone plume of a female insect is typically masked with other pheromone point sources. This reduces the likelihood of a male insect finding a female, and subsequently disrupts and reduces larvae production. The insect population of the next generation is thus decreased, as well as potential crop damage.

Conventional sprayable pheromone formulations are generally provided in liquid filled microcapsules containing an active. Typically, the microcapsules have a polyurea shell that can be formed using an interfacial process involving an isocyanate and an amine. Microencapsulation by this method has been described for example in U.S. Patent 4,487,759 (Nesbitt *et al.*) These polyurea shells allow actives to be released into the atmosphere for up to a total of 2-3 weeks for most insect pheromones. Shells of polyurea capsules are generally semi-permeable, therefore active material can diffuse across the shells and release slowly with time. Potentially, high concentrations of active in the air can be observed immediately upon delivery or spraying of encapsulated products. This may be attributable to a high occurrence of capsule bursts or potential leaks in microcapsules.

WO 02/089576

PCT/US02/12068

U.S. Patent No. 4,532,123 (Gardner) teaches capsules containing a pharmaceutical active material in primary capsules, that are further encapsulated within a second shell to create secondary capsules. The intracapsular liquid core of the secondary capsules contain enzymes which slowly hydrolyze the shell of the primary capsules. This slow hydrolysis enables the slow release of active from the primary capsules into the larger capsular core for controlled delivery.

A Japanese patent, JP 8-173794 teaches encapsulation of an amine within small capsules of polymethyl methacrylate shells. These capsules are further encapsulated within an epoxy-amine polymeric shell. Similarly, the amine within the tiny capsules is released into the core of the larger capsule ultimately delivering the amine upon rupturing of the polymeric shells.

Use of interfacial condensation to encapsulate substances such as pharmaceuticals, pesticides and herbicides is taught in U. S. Patent No. 3,577,515 (Vandegaer). The encapsulation process involves two immiscible liquid phases (typically water and an organic solvent), one being dispersed in the other by agitation, and the subsequent polymerization of monomers from each phase at the interface between the bulk (continuous) phase, and the dispersed droplets. Polyurethanes and polyureas are materials suitable for producing the microcapsules. The microcapsules comprising a polymeric sphere and a liquid centre, ranging from 30 micron to 2 mm in diameter, depending on monomers and solvents used.

Highly viscous and thickened hydrogels have been used to deliver pheromones, fragrances and other non-water soluble actives. U.S. Patent No. 4,755,377 (Steer) describes a process of encapsulating perfume or fragrant material within an aqueous-based gel composition. The resulting material is in the form of a highly viscous semi-solid. U.S. Patent No. 5,645,844 (Henderson *et al.*) describes the use of chitosan paste for delivery of pheromones to disrupt insect mating, where the material can be dispensed by an apparatus such as a caulking gun. Due to their thickness and high viscosity, these materials, however, are generally unsprayable compositions.

Most hydrogels are safe and non-toxic to humans. Hydrogels have been used for the encapsulation of biological materials whereby the formulation is non-lethal to the

WO 02/089576

PCT/US02/12068

viability of the cells, proteins, and related materials. U.S. Patent No. 4,689,293 (Goosen *et al.*) describes the process of encapsulating living tissue or cells. The encapsulation shell permits the passage of materials and oxygen to the cells and permits the diffusion of the metabolic by-products from the gel.

5 Coacervation process is well known in the art for uses such as carbonless copy paper capsules and in encapsulation of leuco dyes, drugs, flavorings and fragrances. U.S. Patent No. 2,800,457 (Green) discloses a gelled colloid that is porous and that the pores may be tightened if the crosslinking step is conducted at pH of 9-10.

10 Other approaches to crosslinking a coacervate microcapsule have employed non-aldehyde crosslinkers. U.S. Patent No. 4,402,856 (Schnoring) discloses the use of a natural and/or synthetic tanning agent and a carbonyl compound to harden a gelatin microcapsule. U.S. Patent No. 5,023,024 (Kyogoku *et al.*) discloses the use of naturally occurring chemicals of the iridoid class, specifically genipin. U.S. Patent No. 5,051,304 (David *et al.*) also discloses the use of tannic acid as a crosslinker.

15 Although the foregoing approaches have proved satisfactory for crosslinking a coacervate shell under certain conditions, the need still exists to provide coacervate shells that are more environmentally friendly, do not utilize toxic crosslinkers, and are more cost effective than previously disclosed.

#### Summary of the Invention

20 The present invention provides a method of encapsulating a pheromone comprising:

- 25
- a) providing a solution comprising a first polymer capable of forming a microcapsule by complex coacervation; a pheromone; and a second polymer, said second polymer being capable of forming a microcapsule by complex coacervation with the composition comprising the first polymer;
  - b) establishing a microcapsule having a coacervation shell without chemical crosslinking of said shell;

WO 02/089576

PCT/US02/12068

- c) adding a third polymer, said third polymer being suitable to form a hydrogel microbead, in an amount effective to form the microcapsule containing composition; and
- 5 d) spraying the microcapsule containing composition into a coordination solution, thereby providing stable hydrogel microbeads comprising microcapsules having a coacervation shell without chemical crosslinking.

Another aspect of the present invention is a method of encapsulating a pheromone wherein the third polymer of step c) above is added before the microcapsule of step b) is established.

- 10 The present invention also provides a pheromone that is encapsulated in a coacervate shell by the above named process.

The hydrogel microbead is preferably hydrophilic and is capable of immobilizing a broad spectrum of microencapsulated active materials, either water-soluble or non-water soluble.

- 15 In an aspect of the invention, the hydrogel microbead may be made from a water-soluble microcapsule containing material to provide an environmentally friendly microbead. The microbeads may be coated with an adhesive to improve application in an intended environment.

- 20 In a further aspect of the invention, the microbeads may be capable of re-hydrating after an initial dehydration and release of active. Thus, the release and longevity of the pheromone can be controlled by adjusting the humidity of the environment in which the microbeads have been delivered.

#### Detailed Description of the Preferred Embodiments

- 25 The present invention provides a pheromone encapsulated within a coacervate shell which in turn is entrained within a hydrogel microbead without an intermediate step of chemically crosslinking the coacervate shell. For purposes of the present invention, a chemical crosslink is a crosslink between two polymers formed by covalent bonds. Thus,

WO 02/089576

PCT/US02/12068

the present invention provides effective delivery of pheromones from a hydrogel microbead structure without the use of potentially environmentally unfriendly chemicals, thus avoiding the use of chemicals such as glutaraldehyde, formaldehyde, and tannic acid, among others. The present invention additionally reduces the incidence of premature  
5 release of the pheromones from the microcapsules. The present invention also delays and/or prolongs the release of pheromones from the coacervate shell as compared to coacervate shell-formed microcapsules that are not entrained within a hydrogel microbead. Uncrosslinked coacervate microcapsules that are not entrained within a hydrogel  
10 microbead are typically unstable. By "unstable" is meant that the coacervate microcapsule lacks form or shape to encapsulate the pheromone, thereby rendering it unfit for the purpose of delivering the pheromone material to the intended environment.

In view of the increasing awareness of insecticide toxicity to humans and other environmental concerns, it would be advantageous to provide a pheromone delivery system having an extended release life, as well as having both an encapsulated shell and a  
15 hydrogel microbead that is non-toxic and bio-degradable. It would also be advantageous to provide a system for sprayable, long-lasting pheromone delivery that would be applicable to a broad spectrum of pheromone material thereby eliminating the issue of reactivity of the pheromone with one or more of the shell components.

The method of the invention can be used to encapsulate pheromones with  
20 functional groups such as acetates, aldehydes, ketones, alcohols, esters, epoxies, ethers, or combinations thereof. Pheromones may be defined as compounds which, when naturally produced, are secreted by one member of an animal species which can influence the behavior or development of another member of the same animal species. Pheromones are species-specific and therefore the application of pheromones for insect behavior  
25 modification has minimal effect on non-target pests. Pheromones supplied for modification of insect behavior interfere with the "mate finding process" by releasing point sources of pheromone, which may compete with or camouflage the pheromone plume of a female. This latter type of action differs from chemical insecticides or insect growth regulators or hormones, in that pheromones target future generations of insects, not  
30 present ones. As pheromones are very species-specific and are used only in small quantities, their use is more environmentally acceptable than broadcasting of pesticides.

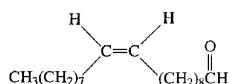
WO 02/089576

PCT/US02/12068

Many pheromones have an ester terminal group, for example and acetate or formate group. Typically these substances are water-immiscible and incorporation of them into microcapsules by known methods presents no particular problem. Additional pheromones that can be encapsulated and then immobilized within the hydrogel  
 5 microbeads include aldehydes, esters, alcohols, epoxy compounds, ethers, ketones, or combinations thereof. This invention is particularly advantageous for delivery of pheromones containing reactive ketones in which the double bond of the carbonyl group is conjugated with one or more double bonds, for example acetophenone where the carbonyl group is conjugated with double bonds of the aromatic ring.

10 Pheromones useful in the invention are preferably insect pheromones. In describing the structure of the a pheromone, the following notation is used: the type (E (trans) or Z(cis)) and position of the double bond or bonds are given first, the number of carbon atoms in the chain is given next and the nature of the end group is given last. To illustrate, the pheromone Z-10 C19 aldehyde has the structure;

15



Pheromones can be mixtures of compounds with one component of the mixture predominating, or at least being a significant component. Partially water-miscible  
 20 significant or predominant components of insect pheromones, with the target species in brackets, include, for example: E/Z-11 C14 aldehyde (Eastern Spruce Budworm), Z-10 C19 aldehyde (Yellow Headed Spruce Sawfly), Z-11 C14 alcohol (Oblique Banded Leafroller), Z-8 C12 alcohol (Oriental Fruit moth), E,E-8,10 C12 alcohol (Codling moth), E-11 C14 alcohol (Tufted Apple Budmoth), E-11 C14 acetate (Sparganothis Fruitworm),  
 25 Z-11 C14 acetate (Blackheaded Fireworm), Z-9 C12 acetate (Grape Berry Moth), Z-11 C14 acetate (Leafroller), E/Z-4 C13 acetate (Tomato Pinworm), Z,Z/Z,E-7,11-C16 acetate

WO 02/089576

PCT/US02/12068

(Gossypure), Z-8-C12 acetate (Oriental Fruit Moth), Z/Z-3,13 C18 acetate (Peach Tree Borer), E,Z/Z,Z-3,13-C18 acetate (Lesser Peach Tree Borer), and 7,8-Epoxy-2-methyl-C18 (Gypsy Moth), among others.

5 An example of a ketone that is a pheromone is E or Z 7-tetradecen-2-one, which is effective with the oriental beetle. An ether that is not a pheromone but is of value is 4-allylanisole, which can be used to render pine trees unattractive to the Southern pine beetle.

Other compounds may optionally be included in the microcapsules of the invention, including perfumes, fragrances, flavoring agents, co-attractants and the like.

10 Optionally, oil absorbents can be incorporated into the pheromone droplets. These absorbents can help retain the pheromone droplets within the microcapsules, resulting in longer lasting formulations. Clays and starches could alternatively be used for this purpose.

The concentration of pheromone in the microcapsules of the invention should be at  
15 a level such that the hydrogel microbead can still provide a strong, rupture resistant network and deliver an effective amount of the pheromone to the environment to which it is intended. Thus, the pheromone is preferably present in an amount between about 0.1 wt % to about 60 wt % (weight percent) of the total weight of the microbead. More preferably, the amount of pheromone is present in the microbead at between about 0.2 wt  
20 % to about 40 wt %; and most preferably between about 0.3 wt % to about 20 wt %.

The present invention relates in part to encapsulation of pheromones within a coacervate microcapsule or shell. Conventional coacervate shells utilize crosslinkers to harden the shell encapsulating the pheromone material. The coacervate shell of the present invention is stable without the use of potentially toxic or undesirable crosslinking  
25 agents, such as aldehydes, ketones or acids. Uncrosslinked coacervate microcapsules that are not entrained within a hydrogel microbead are typically unstable. Typical crosslinking agents have toxic effects or are deemed less environmentally friendly. An advantage of the present invention is the ability to avoid use of potentially toxic or undesirable chemical crosslinkers.

WO 02/089576

PCT/US02/12068

Coacervate shells are typically formed by the phase separation resulting from the neutralization of two oppositely charged colloids. Typical colloids usable to form a coacervate shell of the present invention include a cationic polymer and an anionic polymer. Cationic polymers usable for coacervation include gelatin, chitosan, poly(hexamethylene co-guanidine), and poly-L-lysine, among others. Anionic polymers include gum arabic, gum acacia, alginates, carboxymethyl cellulose, ethylene maleic anhydride (EMA), gelatins, carrageenan, poly(acrylic acid), pectin, serum albumin, starch, and polyphosphates, and the like. Preferably, the coacervate shell of the present invention comprises a gelatin and an alginate or gum arabic, or combinations thereof.

The present invention further involves immobilizing a coacervate shell that encapsulates a pheromone within a hydrogel microbead. This immobilization thus provides encapsulated pheromone in a protective microbead format. The microbeads can be suspended in a solution to provide a delivery system for pheromones, where the system is capable of providing extended release periods. The microbead provides physical protection to the microcapsules from external pressures such as those that can occur during a spray delivery, for example. This in turn minimizes pre-mature capsule bursts (rupturing) and prolongs the release period of the pheromone(s). Upon dehydration of the water from the hydrophilic microbead, the microcapsule containing the pheromone remains immobilized within the microbead. The pheromone is able to then release into the desired environment by diffusion through the capsule shell, followed by diffusion past or through the hydrophilic microbead.

Microcapsules having a coacervation shell without chemical crosslinking of the shell are established through a conventional complex coacervation process. In this process, a first polymer and a second polymer capable of forming a coacervation shell with the first polymer are mixed. In this process, the two polymers form a coacervate in response to a change in their environment, such as pH, temperature, dilution, and the like. Typically, the first and second polymer solutions each possess a respective charge. The "charge" as used herein relates to the functionality of the polymer such that when the encapsulation composition containing the polymers and the pheromone is adjusted by pH or other environmental manipulations, the polymers interact such that they establish a

WO 02/089576

PCT/US02/12068

microcapsule having a coacervation shell without chemical crosslinking of the shell. The procedure of coacervation is within the purview of one skilled in the art.

5 The composition of cationic and anionic polymers are preferably then caused to form a complex by dilution. In some instances, the pH of the composition may need to be adjusted. Prior to adjusting pH or other environmental conditions, the composition may be mixed such that droplets of pheromone are distributed within an aqueous continuous phase to allow the coacervate shell to form around the droplets, thereby forming relatively uniform, round, or elliptical microcapsules containing pheromone. This dilution and/or pH adjustment causes a gel to be formed around the oil soluble pheromones as the  
10 temperatures are lowered to below the gel point of the composition.

The hydrogel microbead of the present invention typically entrains the coacervate microcapsules described above. The microbeads of the present invention may comprise a microcapsule-containing material and pheromone. The hydrogel microbead is also preferably hydrophilic. The degree and extent of agitation as well as the type of surfactant  
15 used to form the microbeads can affect the size and the dispersity of microcapsules within the microbead. Microcapsules entrained within the microbead are preferably between about 0.01 nm to about 300,000 nm in diameter. More preferably, the microcapsules are between about 0.5 nm to about 200,000 nm in diameter.

Microcapsule-containing materials useful in the present invention for making the  
20 hydrogel microbead are biocompatible, water-soluble, have pendant functional groups, and complex with ions (e.g., polyvalent cations and/or anions) to form hydrogels. Functional groups of the microcapsule-containing material include for example, carboxyls, hydroxyls, primary or secondary amines, aldehydes, ketones, esters, and combinations thereof. Preferably the hydrophilic microcapsule-containing material can be made from  
25 naturally occurring polysaccharides, such as alginates, chitosans, gums, agars, carrageenans, or the matrix can be made synthetic, water soluble monomers, oligomers or polymers, such as, for example, polyvinyl alcohol, poly(N-isopropylacrylamide), acrylamides, acrylates, and methacrylates, or combinations thereof.

Suitable naturally occurring polysaccharides include the water-soluble salts of  
30 alginic, pectic and hyaluronic acids, the water-soluble salts or esters of polyglucuronic

WO 02/089576

PCT/US02/12068

acid, polymanuronic acid, polylygalacturonic acid and polyarabinic acid, and gum kappa-carrageenan. The preferred polysaccharides are the ammonium, magnesium, potassium, sodium and other alkali metal salts of alginic acid, and the most preferred polysaccharide is sodium alginate.

5 "Alginate" is the general name given to alginic acid and its salts. Alginates are composed of D-mannosyluronic (mannuronic - "M") and L-gulopyranosyluronic (guluronic - "G") acid residues. The alginate used to immobilize pheromone droplets should be carefully selected to ensure proper microbead formation, ensure the stability of the microbeads during storage and delivery applications, and ensure that the microbeads  
10 are able to shrink and swell appropriately to deliver the desired pheromone over an extended period of time (preferably 4-6 weeks). Preferably, an alginate is chosen such that the microbead formed is sufficient in strength to withstand the shear forces (conditions) placed upon the microbeads during application via a spray nozzle - i.e., the microbeads are resistant to rupture during the spray application.

15 For strength and stability of the microbeads, it is desirable to choose the molecular weight and M:G ratio of the alginate to obtain preferred properties of the ultimate microbead. Although alginates high in mannuronic acid are generally useful for thickening applications, whereas alginates with a high level of guluronic acid are often used for forming gels, both alginate categories (individually or a mixture thereof) are  
20 suitable for the microbeads of the invention. A preferred alginate that imparts strength and rupture resistance is an alginate that has a high level of guluronic acid, e.g., greater than about 30 percent by weight. Alginate compositions with excessive levels of mannuronic acid could result in less stable and less rigid microbeads than high guluronic acid gels. However, high mannuronic acid alginates impart to the microbeads the capability of  
25 swelling and absorbing more water than microbeads of high guluronic acid content. Thus, a careful balance of the advantages imparted by each of M and G residues should be considered when choosing a suitable alginate.

Preferably, alginates used in the microbeads of the invention have a molecular weight in the range of about 100,000 to about 2,500,000, more preferably about 200,000 to

WO 02/089576

PCT/US02/12068

about 1,500,000. Furthermore, the alginates preferably have an M:G ratio in the range of about 0.2 to about 3.5; more preferably about 0.3 to about 1.85.

Preferred alginates have a high level of guluronic acid, for example are alginates from the algae *Laminaria hyperborea*, stem, whole plant or frond. Preferred alginates with high levels of mannuronic acid include *Ascophyllum nodosum*, for example.

Gel matrices that form the hydrogel microbead of the present invention may be formed, for example, by coordinating polysaccharides bearing pendant carboxylate groups. These polysaccharide compounds are composed of water-insoluble alginates which include, with the exception of magnesium and the alkali metal salts, the group II metal salts of alginic acid. The water-insoluble alginate gels are typically formed by the chemical conversion of water-soluble alginates, in an aqueous solution, into water-insoluble alginates. This conversion usually is accomplished by the reaction of a water-soluble alginate with polyvalent cations released from a soluble di- or trivalent metal salt.

Water-soluble alginates can include the ammonium, magnesium, potassium, sodium, and other alkali metal salts of alginic acid. Water-insoluble di- or trivalent metal salts suitable for the present invention should satisfy two requirements: (1) that the water-insoluble metal salt contain a di- or trivalent metal ion capable of complexing with the pendant carboxylate groups of the water-soluble polysaccharide to cause the formation of a water-insoluble polysaccharide gel; and (2) that the water-insoluble metal salt reacts with a water-soluble acid to form a water-soluble metal salt.

A common and suitable alginate gel is composed of calcium alginate.

The time of gelation of the calcium alginate gels can be accomplished by regulating the concentration of free calcium ions in the solution. Typically, the concentration of free calcium ions is controlled by manipulation of the ionization rate of the calcium salt and/or by the inclusion of other compounds in the solution which react with the free calcium ions.

The process of making the microbeads of the invention preferably comprises making the pheromone-filled microcapsules and dispersing the microcapsule suspension in the hydrophilic microcapsule-containing material. The mixture is then hardened (gelled)

WO 02/089576

PCT/US02/12068

to form microbeads. The resulting microbead is a hydrogel microbead, having greater than about 30% water initially. The pheromone-filled microcapsules are dispersed and entrained within the water-polymer microbead.

5 The hydrophilic microbead with the microcapsules entrained in the microbead can be formed either by ionic interactions or by thermal setting. When forming microbeads by ionic interactions, there are two preferred methods of forming: (1) the spray method and (2) the emulsification method. In the spray method, the microcapsule-containing mixture is mixed and then atomized mechanically to form small spherical droplets. The size of the microbeads is generally governed by the intrinsic properties of the emulsion suspension,  
10 the feed rate and the coaxial airflow rate.

The droplets which are atomized can then be allowed to free-fall directly into a reacting bath. The reacting bath cures or sets the hydrogels so that they solidify. Reaction bath curing can be achieved through chemical or non-chemical means. For the case of sodium alginates, calcium ions are used to coordinate the polymer chains. A preferred  
15 coordination compound is calcium chloride.

For the purpose of the present invention, "coordination compounds" relates to chemicals or compounds that are usable to give the hydrogel microbead and the coacervate shell structure such that it can be applied to its intended environment. Suitable coordinating compounds are preferably divalent and multivalent ionic compounds, such as  
20 low molecular weight inorganic or organic compounds including monomers, oligomers and polymers. An example of a suitable coordination compound is Calcium (Ca<sup>++</sup>) ions for an alginate.

Sources for the coordination compound calcium ions used in the formation of alginate gels include, for example, calcium carbonate, calcium sulfate, calcium chloride,  
25 calcium phosphate, calcium tartrate, calcium nitrate, and calcium hydroxide. Other acceptable coordination compounds may include lanthanum chloride, ferric chloride, cobaltous chloride, as generally are other compounds with multivalent cations, such as calcium (Ca<sup>++</sup>), copper (Cu<sup>++</sup>), barium (Ba<sup>++</sup>), strontium (Sr<sup>++</sup>) and the like.

WO 02/089576

PCT/US02/12068

Alternatively, an emulsification method can be used to produce hydrogel microbeads. In selecting the continuous phase material, it is preferable that it be immiscible with the aqueous microcapsule-containing material.

5 The microcapsule-containing material preferably has a range of concentrations usable in practicing the invention. The concentration should be chosen to optimize ease of handling, gelling time, the strength of the hydrogel microbead around the pheromone droplets. For example, a sodium alginate solution can preferably be prepared in a concentration of about 1 to about 10 % (w/v) in water, more preferably about 1.5 to about 5 % and most preferably from about 1 to 3 %. However, if the hydrogel agent  
10 concentration is too high, the solution may be so viscous as to hinder the formation of spherical microbeads.

Alternatively, hydrogel microbeads of the invention can be formed, for example, by adding the microcapsule-containing material solution drop-wise to a selected coordination compound. For example, a method can be used whereby droplet formation  
15 and coordination compound addition is completed as a one step process by a vibrating nozzle which ejects a hydrogel droplet from one source and coats the droplet with a coordination compound from another. U.S. Patent No. 4,701,326 teaches use of this method.

In the preferred aspect where alginates are used to immobilize an pheromone, a  
20 coordinating solution is preferably made up at a concentration of 1 to 1000 millimolar, more preferably 20 to 500 millimolar and most preferably from 50 to 100 millimolar. The concentration ranges may have to be adjusted, depending on the nature of a coordination compound and microcapsule-containing material.

The microcapsule-containing material and pheromone can be treated with the  
25 coordination compound or solution by soaking, spraying, dipping, pouring or any of sever other methods which will deposit an amount of the complexing agent on the droplet. When soaking, the time in solution may be from 1 second to 24 hours, preferably 1 minute to 1 hour, and more preferably from 10 to 30 minutes.

WO 02/089576

PCT/US02/12068

The temperature for hydrogel microbead formation is preferably chosen as to avoid damage or alteration to the pheromone. For example, in the preferred aspect where alginates are utilized, the temperature is preferably in the range of about 1 °C to about 70 °C; more preferably between about 10 °C to about 40 °C, and most preferably between about 15 °C to about 30 °C.

To immobilize pheromone-filled microcapsules within a temperature setting, the microcapsule-containing material must first be solubilized in water using heat. The heating temperature is preferably be within a range of about 40 °C to about 100 °C. When the microcapsule-containing material is completely dissolved, the temperature of the solution is lowered such that the solution is about 5 °C to about 10 °C above the gel setting temperature. A suspension containing pheromone-filled microcapsules is then preheated to a similar temperature to that of the microcapsule-containing solution, after which the two mixtures are blended together and mixed homogeneously.

To produce the microbeads, the molten microcapsule-containing material can be atomized through a nozzle system or be emulsified using an oil type continuous phase. In the spray method, the molten suspension can be atomized using coaxial air, for an example, and dropped into an ice bath containing distilled water. The microbead is then formed, entraining the microcapsules therein.

To produce the microbeads using the emulsification method, a continuous oil phase is preheated in a jacketed reactor to the temperature of the molten microcapsule suspension. The continuous phase may be any hydrophobic liquid. The preferred and most convenient liquid is a vegetable oil or mineral oil. Other possible hydrophobic liquids may include hydrofluorethers, siloxanes, or solvents such as cyclohexanes and chloroforms. The microcapsule suspension is then emulsified in the continuous phase with the aid of a mixer. The mixing is continued until a desired particle size is obtained. The temperature of the reaction mixture is then lowered to that of ice water (about 5 °C). The matrix is then formed, entraining the microcapsules therein. The microbeads can then be filtered and washed prior to suspending them in solution for delivery.

The present invention provides microbeads having matrix cores that can provide sufficient immobilization of oil soluble pheromones and alcohol pheromones such that the

WO 02/089576

PCT/US02/12068

pheromone can be delivered and sprayed by conventional techniques. The hydrophilic microbead preferably and advantageously imparts the capability of the hydrogel microbeads to immobilize the coacervate shell of oil-soluble and alcohol pheromones, and minimizes the risk of undesired reactivity between the pheromone and its immobilizer.

5 Thus, immobilization of pheromones by use of the microbeads of the invention does not render the immobilized material inert or ineffective.

A further benefit from immobilizing pheromone in hydrogel microbeads is the ability of the hydrogel to "swell" under humid conditions and shrink under dry conditions. As used herein, "swell" is descriptive of the behavior of a microbead, wherein the size (volume) is enlarged (increased) due to absorption of water. This is likely due to the hydrophilic nature of the microcapsule-containing materials used to immobilize the pheromone.

In the presence of humidity, the hydrogel microbeads are preferably capable of absorbing moisture, rehydrating, and consequently releasing pheromone contained within the microbead. This behavior can be cyclical. Thus, by controlling the humidity (or dryness) of the ambient air, the release rate of pheromone from the microbeads can be controlled such that specific periods of release can be generally predicted. It is therefore possible with the present invention to release the pheromone on demand from the microbead. Release on demand, or "smart release," can be advantageous in those instances where release is preferred at certain times. The microbeads' ability to further release the pheromone may increase the longevity of releasing effective amounts of the pheromone. Preferably, the microbeads are delivered to an intended environment in effective amounts to obtain the desired effect. For example, microbeads having pheromones entrained therein, are preferably delivered to a desired area in amounts such that mating disruption is effected and release is accomplished for more than 4 weeks, more preferably, the microbead can release for more than about 6 weeks; and most preferably more than about 8 weeks.

During the drying process (i.e. dehydration) a surface film layer will form as a result of water evaporation from the hydrophilic microbead. Both initially and during use, the microbeads are characterized by a large surface area to volume ratio, which helps

WO 02/089576

PCT/US02/12068

maintain the rate of diffusion of the pheromone during use. Thus, it has been found that microbeads made according to the method of present invention provide excellent delivery systems as they are capable of releasing the pheromone for extended periods.

5 Furthermore, since the pheromone is dispersed within a water-based microbead, additional protection from environmental conditions (i.e., UV) can be provided.

Although it has been found that microbeads of the invention can be made having a diameter of up to about 5 millimeters (mm), it is preferred that the microbeads be between about 1 micrometer ( $\mu\text{m}$ ) to about 1000 $\mu\text{m}$  and more preferably between about 1  $\mu\text{m}$  to about 500  $\mu\text{m}$  in diameter to ensure that the microbeads are easily sprayable from  
10 conventional spray nozzles. Most preferably, to ensure minimal clogging in conventional nozzles, the microbeads are less than about 400 $\mu\text{m}$  in diameter. It is conceivable, however, that with the advent of larger spray nozzles not currently used in the industry, the microbeads can be provided in much greater diameters.

For, spraying applications, particularly aerial spraying, it is desirable that the  
15 microbeads be capable of remaining suspended in solution (water) to ensure that the microbeads do not sink, settle, or coagulate in the suspension. This also ensures an even spray coverage. Preferably, the microbeads of the invention are able to remain in suspension, thus minimizing if not eliminating the need to agitate during application and optionally, during storage. Various suspension aids can also be included in the suspension  
20 containing the microbeads of the invention. Examples of suitable suspension aids include rhamnus gum, xanthum gum, gellan gum, gelatin, pectin, and gum arabic.

Owing to the handling to which the microbeads are subjected, it is desirable that the microbeads of the present invention should be somewhat elastic, and not frangible. For example, atomization of a suspension during a spray application may force the  
25 suspension through two rotating perforated discs that are immediately upstream of the discharge nozzle. Sufficient elasticity of the microbeads minimizes physical damage to the microbeads as they pass through the discs.

The microbeads of the present invention are preferably delivered in suspension in aqueous or solvent-based solutions. For environmental and biologically-friendly reasons,

WO 02/089576

PCT/US02/12068

it is preferred that aqueous suspensions be used. Suspension aids are preferably included in the suspension formulations to ensure the microbeads remain suspended in solution.

5 Preferably, the suspension solution is substantially free of monovalent cations, such as sodium, to avoid degradation or breakdown of the microbeads. In a preferred aspect, a concentration of approximately 50 millimolar of a coordination compound such as calcium chloride is maintained in a stored solution comprising the microbeads of the invention.

10 Optionally, adhesive material can be included in the compositions of the invention to assist in retention of the microbeads to an intended substrate. The adhesive material can be provided in various forms, such as for example, latex or a tacky microspheres. Adherent properties imparted to the hydrogel microbeads should result in the microbeads being able to still retain their suspended state and minimize aggregation or coagulation in the aqueous suspension. Furthermore, any adhesive material used to impart adherent properties should not affect the integrity of the particles; it should not dissolve or weaken the microbead(s).

15 A suitable adhesive material that may be included in the compositions of the invention is adhesive latex. The adhesive latex may be any suitable water-dispersible adhesive available in the art. In the agricultural business, such latex compositions are often called stickers or spreaders. Stickers are used to help non-encapsulated agriculture chemicals adhere to plants. Spreaders are used to help disperse non-encapsulated agriculture chemicals on application. Preferred adhesives are acrylate-based adhesives. One suitable latex is available from Rohm & Haas under the trade designation COMPANION. Another is available from Deerpoint Industries under the trade designation DPI S-100 (a proprietary sticker/spreader). Examples of such adhesives are 20 polymers made from the "soft" monomers such as n-butyl acrylate, isooctyl acrylate, or the like, or copolymers made from a soft component, such as isobutylene, n-butyl acrylate, isooctyl acrylate, ethyl hexyl acrylate, or the like; and a polar monomer such as acrylic acid, acrylonitrile, acrylamide, methacrylic acid, methyl methacrylate or the like. Non-spherical polyacrylate adhesives are commercially available, for example, as the Rohm

WO 02/089576

PCT/US02/12068

and Haas RHOPLEX line of adhesives. Preferably, the non-spherical polyacrylate adhesive is present in an amount of about 10-35% by weight of the total suspension.

5 Tacky microspheres of adhesive may alternatively be used to help adhere the hydrogel microbeads of the invention to an intended substrate. The tacky microspheres have sufficient adhesive properties to provide the desired adhesive function, yet there is no danger of completely coating the microbead which may lead to potentially inhibiting the release characteristics of the microbead. The combination of microbeads and tacky microspheres may be applied without the need to modify the orifices of conventional sprayers with minimal clogging or plugging problems. Furthermore, the incorporation of tacky (adhesive) microspheres to the (formulation) suspension of microbeads allows the microbeads' surfaces to become tacky. The beads can therefore stick to intended surfaces, such as, foliage and branches, for example. The adhesive microspheres, especially if they are hollow, may also absorb some of the pheromone into its own body, thus providing a second mechanism of release of the pheromone. This could result in an overall alteration, preferably an enhancement, of the release profile.

Preferably, the adhesive material is an acrylate- or methacrylate-based adhesive system comprising infusible, solvent dispersible, solvent insoluble, inherently tacky, elastomeric copolymer microspheres as disclosed in U.S. Pat. No. 3,691,140. Alternatively, this adhesive composition may comprise hollow, polymer, acrylate, infusible, inherently tacky, solvent insoluble, solvent dispersible, elastomeric pressure-sensitive adhesive microspheres as disclosed in U.S. Pat. No. 5,045,569. Other suitable adhesives are the tacky microspheres having pendant hydrophilic polymeric or oligomeric moieties that are disclosed in U.S. Pat. No. 5,508,313.

Alternatively, the adhesive comprises between about 60-100% by weight of hollow, polymeric, acrylate, inherently tacky, infusible, solvent-insoluble, solvent-dispersible, elastomeric pressure-sensitive adhesive microspheres having a diameter of at least 1 micrometer, and between about 0-40% by weight of a non-spherical polyacrylate adhesive. The hollow microspheres are made in accordance with the teaching of European Patent Application 371,635.

30 Yet, another alternative is the association of certain type B gelatins with

WO 02/089576

PCT/US02/12068

microencapsulated insecticides, especially those employing polyurea subunits in the microcapsule walls as disclosed in U.S. Patent No. 4,436,719.

5 The compositions of the present invention may also include one or more adjuvants including, for example, gelling aids, preservatives, dyes, humectants, fixatives, emulsifiers, extenders, and freeze/thaw stabilizers such as polyhydric alcohols and their esters. These materials are present in an amount effective to achieve their extended function, generally less than about 5% typically less than 2%, by weight of the composition.

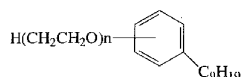
10 Incorporation of a light stabilizer can be included in the microbeads of the invention. Suitable light stabilizers include the tertiary phenylene diamine compounds disclosed in Canadian Patent No. 1,179,682. The light stabilizer can be incorporated by dissolving it, with the pheromone, in a water-immiscible solvent. Alternatively, a light stabilizer can be incorporated in the microbeads as taught in Canadian Patent No. 1,044,134.

15 Surfactants may be used in the process of forming the microbeads. The incorporation of different surfactants will offer different types of microemulsion drop sizes of the pheromone within the hydrogel as well as dictate the amount of free oil lost in the reacting bath solution. A preferred surfactant has a high critical micelle concentration, such as for example, a product available under the product designation DISPONIL SUS IC 20 875 (CMC ~ 1%), available from Henkel (Ambler, PA).

Particularly preferred surfactants are nonionic. Examples of suitable surfactants include polyvinylpyrrolidone (PVP) and poly(ethoxy)nonylphenol. PVP is usable and available at various molecular weights in the range of from about 20,000 to about 90,000. PVP having a molecular weight of about 40,000 is preferred. Poly(ethoxy)nonylphenols are commercially available under the trade designation IGEPAL from Rhone-Poulenc (Cranbury, NJ), with various molecular weights depending on the length of the ethoxy chain. Poly(ethoxy)nonylphenols having the formula:

WO 02/089576

PCT/US02/12068



where n has an average value from about 9 to about 13 can be used. A preferred poly(ethoxy)nonylphenols is available commercially under the product name IGEPAL 630, from Rhone-Poulenc (Cranbury, NJ) -- 630 is indicative of the approximate molecular weight of the compound. Other examples of suitable surfactants include polyether block copolymers, such as those available under the trade designations PLURONIC and TETRONIC, both available from BASF (Washington, NJ), polyoxyethylene adducts of fatty alcohols, such as BRIJ surfactants available from ICI (Wilmington, DE), and esters of fatty acids, such as stearates, oleates, and the like. Examples of such fatty acids include sorbitan monostearate, sorbitan monooleate, sorbitan sesquioleate, and the like. Examples of the alcohol portions of the fatty esters include glycerol, glucosyl and the like. Fatty esters are commercially available as surfactants under the trade designation ARLACEL C from ICI (Wilmington, DE)

Various properties of the surfactant, such as for example, chain length, functional groups, and hydrophobic regions, can affect the size of the pheromone droplets formed within the microbeads. For example, use of PVP (having a molecular weight of 40,000) tend to result in production of larger sized pheromone droplets than use of poly(ethoxy)nonylphenols (IGEPAL 630).

Ionic surfactants can alternatively be used in the processes of the invention. Examples of suitable ionic surfactants partially neutralized salts of polyacrylic acids such as sodium or potassium polyacrylate or sodium or potassium polymethacrylate.

The microencapsulated pheromone entrained in the microbeads of the invention are released gradually over time. This is a variant of the mechanism that could occur with conventional microencapsulated materials that do not have a hydrophilic matrix to cushion and protect the pheromone, since an unprotected microcapsule could potentially release the pheromone nearly all at one time, for example at the time of shell rupture. Pheromone

WO 02/089576

PCT/US02/12068

release from the microbeads of the invention is preferably and advantageously controllable by controlling the humidity (and dryness) of the environment in which the microbeads are located.

5 While not being bound by this theory, it is believed that one mechanism of release of the pheromone involves water evaporation from the gel microbead followed by the diffusion of pheromone through the microcapsule shell and then through the hydrophilic microbead. Release (diffusion) by this mechanism could result in a delayed release of the pheromone. In another theorized mechanism, the pheromone becomes entrained in the water from the microbead, and as the water evaporates, the pheromone releases into the  
10 atmosphere.

In preferred applications, these hydrogel microbeads would be sprayed followed by water evaporation within the gel. As the hydrogel bead dehydrates, the microbead shrinks in size and releases its pheromone with time. The degree of shrinkage of the microbead from its original size, depending on the components used in the formulation. Preferably,  
15 the microbeads shrink about 10% to about 90% from its original size, more preferably from about 40% to about 80%, and most preferably from about 50% to about 70%.

Advantageously, the microbead, upon re-exposure to humidity, can swell and rehydrate itself by absorbing water. Re-exposure to humidity can be performed in various ways. For example, the microbeads' surfaces can be contacted directly with water or other  
20 aqueous solutions. In agricultural applications where pheromones are used, a farmer or caretaker can irrigate the plants and foliage to re-hydrate the hydrogel microbeads. Alternatively, the humidity of the environment or ambient air in which the microbeads are located in can be increased by entraining air droplets in the air. Thus, the microbeads can be "re-activated" by re-hydration, thereby selectively controlling the release times of the  
25 pheromone.

The microbeads of the invention can be delivered to an intended substrate by various methods. Pheromone delivery using microbeads depends on various factors, such as for example, the size of release coverage desired. For small concentrated areas, the microbeads can be impregnated into hollow fibres, plastic laminate flakes or twist-ties and

WO 02/089576

PCT/US02/12068

then physically attaching the fibres or ties to plants to be protected from insect infestation. For larger areas, spraying (aerially or by backpack) may be the better option.

5 The following examples are for illustration purposes only and are not meant to limit the scope of the invention. Unless otherwise specified, all parts and percentages are by weight.

#### Examples

10 **Comparative Example 1: Preparation of the coacervate microcapsule.**

A 100 mL of 10% (by weight) gelatin Bloom 300 solution in water, obtained from Fisher Scientific, New Jersey, was charged to a 1 liter baffled jacketed reactor fitted with a turbine impeller. The solution was mixed at 1000 rpm for 10 minutes at 50°C. 100g of oil phase Z-11 tetradecenyl acetate obtained from Shin-Etsu, Japan was emulsified in the jacketed solution at 50°C for 5 minutes. A 90 mL of 11% (by weight) Gum Acacia solution obtained from Fisher Scientific, New Jersey was added to the emulsion at 50°C and mixed for 2 minutes. 1000mL of water, preheated to 50°C was then introduced to the mixture. The pH was lowered to about 4.4 using a 10% sodium carbonate solution. The temperature of the mixture was then lowered to between 15 and 25°C. The mixture was kept at pH of about 4.4 and temperature of between 15 and 25°C for about 1 hour while mixing constantly at 850 rpm. About 2.6g of Glutaraldehyde solution obtainable from Aldrich Chemical of Milwaukee, Wisconsin, was added to the mixture with continued mixing overnight. The coacervate microcapsule formed had a mean diameter of about 20 microns.

25

**Example 2: Preparation of Uncrosslinked coacervate microcapsule.**

A 100 mL of 10% (by weight) gelatin Bloom 275 solution in water, obtained from Aldrich Chemical of Milwaukee, Wisconsin, was charged to a 1 liter baffled jacketed reactor fitted with a turbine impeller. The solution was mixed at 1000 rpm for 10 minutes at 50°C. 100g of oil phase containing a 50% (by weight) blend of dodecanol, obtained from Aldrich Chemical of Milwaukee, Wisconsin and Mygliol 812N obtained from

30

WO 02/089576

PCT/US02/12068

Condea Vista of Houston, Texas, at 50°C was emulsified in the jacketed solution for 5 minutes. A 90 mL of 11% (by weight) Gum Acacia solution obtained from Fisher Scientific, New Jersey, was added to the emulsion at 50°C and mixed for 2 minutes. 1000mL of water, preheated to 50°C was then introduced to the mixture. The pH was  
5 lowered to about 4.4 using a 10% sodium carbonate solution. The temperature of the mixture was then lowered to between 15 and 25°C. The mixture was kept at pH of about 4.4 and temperature of between 15 and 25°C for about 1 hour while mixing constantly at 850 rpm.

10 **Comparative Example 3: Hydrogel Microbeads**

A sodium alginate solution was initially prepared by dissolving a preweighed amount of alginate into a known volume of distilled water. The solution was mixed thoroughly to solubilize the polymer and was deaerated for removal of entrained air bubbles. In a separate 250 ml vessel, a composition of about 25% coacervate  
15 microcapsule from Example 1 above, and 2% polysaccharide solution obtained from Sigma Chemical of St. Louis, Missouri, was mixed with the sodium alginate solution, creating a suspension. The suspension was thoroughly mixed at a speed of about 300 rpm using a marine type impeller (3 cm diameter). The microcapsule suspension was then atomized into fine particle droplets using a coaxial air nozzle sprayer into a calcium  
20 chloride bath (50 mM concentration). The size of the particles was determined by the settings on the atomizing device. The hydrogel microbeads produced ranged in sizes with a mean diameter of about 125 microns. These beads were then filtered and resuspended in a solution of 50mL calcium chloride obtained from Aldrich Chemical of Milwaukee, Wisconsin, and 0.4% xanthan gum obtained from Kelco, New Jersey.

25

**Example 4: Hydrogel Microbeads without crosslinking**

A sodium alginate solution was initially prepared by dissolving a preweighed amount of alginate into a known volume of distilled water. The solution was mixed thoroughly to solubilize the polymer and was deaerated for removal of entrained air  
30 bubbles. In a separate 250 mL vessel, a composition of about 25% coacervate microcapsule from Example 2 above, and 2% polysaccharide solution obtained from

WO 02/089576

PCT/US02/12068

Sigma Chemical of St. Louis, Missouri, was mixed with the sodium alginate solution, creating a suspension. The suspension was thoroughly mixed at a speed of about 300 rpm using a marine type impeller (3 cm diameter). The microcapsule suspension was then atomized into fine particle droplets using a coaxial air nozzle sprayer into a calcium chloride bath (50 mM concentration). The size of the particles was determined by the settings on the atomizing device. The hydrogel microbeads produced ranged in sizes with a mean diameter of about 125 microns. These beads were then filtered and resuspended in a solution of 50mL calcium chloride obtained from Aldrich Chemical of Milwaukee, Wisconsin, and 0.4% xanthan gum obtained from Kelco, New Jersey.

10

WO 02/089576

PCT/US02/12068

**What is claimed:**

1. A method of encapsulating a pheromone, comprising:
  - a) providing a solution comprising a first polymer capable of forming a microcapsule by complex coacervation; a pheromone; and a second polymer, said second polymer being capable of forming a microcapsule by complex coacervation with the composition comprising the first polymer;
  - b) establishing a microcapsule having a coacervation shell without chemical crosslinking of said shell;
  - c) adding a third polymer, said third polymer being suitable to form a hydrogel microbead, in an amount effective to form a microcapsule containing composition; and
  - d) spraying the microcapsule containing composition into a coordination solution, thereby providing stable hydrogel microbeads comprising microcapsules having a coacervation shell without chemical crosslinking.
2. The method of claim 1, wherein the third polymer of step c) is added before the microcapsule of step b) is established.
3. The method of claim 1, wherein the pheromone is a blend of active ingredients preselected for a particular insect pest.
4. The method of claim 1, wherein the hydrogel microbead comprises a natural occurring polymer.
5. The method of claim 1, wherein the first polymer is cationic
6. The method of claim 1, wherein the second polymer is anionic.
7. The method of claim 1, wherein the third polymer is anionic.
8. Hydrogel microbeads made by the process of claim 1.

WO 02/089576

PCT/US02/12068

9. A pheromone containing hydrogel microbead comprising microcapsules, said microcapsules further comprising pheromones encapsulated within a coacervate shell that has not been crosslinked with aldehyde, ketone, or acid, said  
5 microcapsule being entrained within a hydrogel complex.
10. A method of retaining and delivering pheromone comprising:
- a) providing a solution comprising a first polymer capable of forming a microcapsule by complex coacervation; a pheromone; and a second polymer,  
10 said second polymer being capable of forming a microcapsule by complex coacervation with the composition comprising the first polymer;
- b) establishing a microcapsule having a coacervation shell without chemical crosslinking of said shell;
- c) adding a third polymer, said third polymer being suitable to form a hydrogel  
15 microbead, in an amount to effectively form a microcapsule containing composition;
- d) spraying the microcapsule containing composition into a coordination solution, thereby providing stable hydrogel microbeads, comprising microcapsules having a coacervation shell without chemical crosslinking; and  
20 e) delivering said hydrogel microbeads onto a substrate in an intended environment.

## 【 国際調査報告 】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		National Application No PCT/US 02/12068
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
IPC 7 A01N25/34 A01N25/28 A01N37/02 A01N35/02 A01N31/02		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) WPI Data, EPO-Internal, CHEM ABS Data		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DATABASE WPI Section Ch, Week 198517 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class A96, AN 1985-102738 XP002212607 & JP 60 048923 A (MITSUI TOATSU CHEM INC), 16 March 1985 (1985-03-16) abstract ---	1-10
Y	GB 1 236 855 A (FUJI PHOTO FILM) 23 June 1971 (1971-06-23) page 1, column 1, line 9 - line 17 page 1, column 2, line 50 - line 73 page 1, column 2, line 79 - page 1, column 1, line 9 page 2, column 2, line 40 - line 44 page 3, column 1; example 2 --- -/--	1-10
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents:		
*A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		*T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
*E* earlier document but published on or after the international filing date		*X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
*L* document which may throw doubts on priority claims or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)		*Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
*O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		*Z* document member of the same patent family
*P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
6 September 2002	18/09/2002	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-2018	Authorized officer  Lamers, W	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/US 02/12068

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>DATABASE WPI Section Ch, Week 199342 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class B04, AN 1993-331371 XP002212608 &amp; JP 05 238957 A (KIBUN FOOD CHEMIFA KK), 17 September 1993 (1993-09-17) abstract</p>	1-10
P,X	<p>WO 01 30146 A (3M INNOVATIVE PROPERTIES CO) 3 May 2001 (2001-05-03) claims 1,6,10</p>	9
A	<p>DATABASE CA 'Online! CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE, COLUMBUS, OHIO, US; S.OMI ET AL.: "Microencapsulation of pheromone analogs and measurement of the sustained release" retrieved from STN-INTERNATIONAL Database accession no. 116:2284 XP002212606 abstract &amp; J.MICROENCAPSULATION, vol. 8, no. 4, 1991, pages 465-478,</p>	1-10
A	<p>WO 98 45036 A (MINNESOTA MINING &amp; MFG) 15 October 1998 (1998-10-15) page 1, line 5 - line 9 page 3, line 20 -page 4, line 4 page 5, line 14 -page 6, line 19 page 9, line 1 -page 10, line 11</p>	1-10
A	<p>DE 30 32 616 A (ROUSSEL UCLAF) 12 March 1981 (1981-03-12) claims 1,12</p>	1-10

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
International Application No PCT/US 02/12068				
JP 60048923	A	16-03-1985	JP 1798248 C JP 5004365 B	12-11-1993 19-01-1993
GB 1236855	A	23-06-1971	AT 289536 B BE 737815 A DE 1940745 A1 ES 370602 A1 FR 2016071 A5 NL 6912742 A US 3493464 A	15-02-1971 02-02-1970 02-04-1970 16-04-1971 30-04-1970 24-02-1970 03-02-1970
JP 5238957	A	17-09-1993	JP 2511612 B2	03-07-1996
WO 0130146	A	03-05-2001	US 6375968 B1 AU 1078001 A EP 1221841 A1 WO 0130146 A1	23-04-2002 08-05-2001 17-07-2002 03-05-2001
WO 9845036	A	15-10-1998	US 6248364 B1 AU 734623 B2 AU 6451398 A BR 9807934 A CN 1252012 T EP 0973606 A1 JP 2001519714 T NZ 337774 A TR 9902483 T2 WO 9845036 A1 ZA 9802711 A	19-06-2001 21-06-2001 30-10-1998 22-02-2000 03-05-2000 26-01-2000 23-10-2001 27-04-2001 21-06-2001 15-10-1998 30-09-1999
DE 3032616	A	12-03-1981	FR 2464093 A1 AU 6190680 A BE 884992 A1 BG 32844 A3 BR 8005502 A CA 1156519 A1 CH 653915 A5 DE 3032616 A1 EG 15288 A EP 0025379 A2 ES 494487 D0 ES 8103665 A1 GB 2057389 A , B GR 69948 A1 IL 60864 A IT 1146191 B JP 1645705 C JP 3010372 B JP 56037042 A MX 7014 E NL 8004944 A OA 6595 A SU 1655294 A3 TR 21880 A US 4376113 A ZA 8005240 A	06-03-1981 05-03-1981 02-03-1981 15-10-1982 10-03-1981 08-11-1983 31-01-1986 12-03-1981 30-09-1986 18-03-1981 16-03-1981 16-06-1981 01-04-1981 22-07-1982 29-02-1984 12-11-1986 13-03-1992 13-02-1991 10-04-1981 04-02-1987 03-03-1981 31-08-1981 07-06-1991 03-10-1985 08-03-1983 30-09-1981

## フロントページの続き

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT, BE,CH,CY,DE,DK,ES,FI,FR,GB,GR,IE,IT,LU,MC,NL,PT,SE,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN, TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,ES,FI,GB,GD,GE, GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NO,NZ,OM,PH,P L,PT,RO,RU,SD,SE,SG,SI,SK,SL,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,UZ,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 クォン,ダグラス

アメリカ合衆国,ミネソタ 5 5 1 3 3 - 3 4 2 7,セント ポール,ピー.オー.ボックス 3  
3 4 2 7

Fターム(参考) 4H011 AC07 BA01 BB05 BC19 DA02 DA06 DH02 DH03 DH06 DH10  
DH11 DH14