

최종보고서

랫드를 이용한 토탈싹의 급성경구독성시험

ATO-24020



(주)한국생물안전성연구소

KBSI

제 출 문

시험물질 : 토탈삭

시험제목 : 랫드를 이용한 토탈삭의 급성경구독성시험

상기 독성시험을 농촌진흥청 고시 제2024-13호 “농약 및 원제의 등록기준” [별표 12] 인축 독성 시험기준과 방법에 준하여 실시하고 그 결과를 다음과 같이 제출합니다.

2024년 12월 26일

(주)한국생물안전성연구소

시험책임자 염 지 영 서명



본 시험은 농촌진흥청 고시 제2024-13호 “농약 및 원제의 등록기준” [별표 12] 인축 독성 시험기준과 방법에 준하여 실시하고 그 결과를 다음과 같이 제출합니다.

목 차

[Contents]

보고서표지	1
제출문	2
목차 [Contents]	3
1. 요약 [Summary]	5
2. 시험실시의 개요 [Introduction]	6
2.1. 시험제목	6
2.2. 시험물질	6
2.3. 시험목적	6
2.4. 시험방법	6
2.5. 시험의뢰자	6
2.6. 시험기관	6
2.7. 시험장소	6
2.8. 시험책임자	6
2.9. 시험관계자	7
2.10. 시험일정	7
2.11. 시험물질의 보관	7
2.12. 시험자료의 보관	7
3. 시험재료 및 방법 [Materials and methods]	8
3.1. 시험물질	8
3.2. 실험동물	8
[표 1. 실험동물의 주령 및 체중범위]	8
3.3. 사육환경 및 관리	9
3.4. 시험약량 수준설정 및 시험용액 조제	9
3.5. 시험물질의 투여	10
4. 관찰 및 측정 [Observation and determination]	11
4.1. 일반증상 및 치사동물 관찰	11
4.2. 체중 측정	11
4.3. 부검	11
4.4. 반수치사약량 (LD ₅₀) 산출	11
[표 2. 급성독성정도에 따른 농약 등의 구분]	11
5. 시험결과 [Results]	12
5.1. 일반증상 및 치사동물	12
5.2. 체중 변화	12

본 보고서의 내용은 시험실시 결과에
기반한 것으로, 시험실시 결과에
따라 변경될 수 있습니다.

5.3. 부검소견	12
5.4. 반수치사약량 (LD ₅₀)	12
5.5. 급성경구독성시험의 결과	12
6. 참고문헌 [References]	13
7. Tables	14
Table 1. Mortality of rats	14
Table 2. Clinical signs of rats	15
Table 3. Body weights	16
Table 4. Macroscopical findings necropsy	17



이상의 시험결과, 랫드를 이용한 토탈씩의 급성경구독성시험 LD₅₀값은 2000 mg/kg B.W. 초과이며, 농약관리법 시행규칙 [별표 3의5] 농약등의 독성 및 잔류성정도별 구분에 의거 IV급 (저독성)으로 구분되었다.

2. 시험실시의 개요 [Introduction]

2.1. 시험제목

랫드를 이용한 토탈싹의 급성경구독성시험

2.2. 시험물질

토탈싹

2.3. 시험목적

랫드를 이용한 급성경구독성시험을 통하여 유기농업자재 공시에 관한 기초자료로 활용코자 한다.

2.4. 시험방법

농촌진흥청 고시 제2024-13호 “농약 및 원제의 등록기준” [별표 12] 인축 독성 시험 기준과 방법 중 12-1-20. 급성경구독성시험 (급성독성등급법)에 준하여 실시하였다.

2.5. 시험의뢰자

명칭: (주)케이엔텍

소재지: 경기도 화성시 우정읍 만곡동1길 42

2.6. 시험기관

명칭: (주)한국생물안전성연구소

소재지: 충청북도 음성군 감곡면 성주로 362-20

연락처: Tel) 043-882-0297, Fax) 043-882-0298

2.7. 시험장소

명칭: (주)한국생물안전성연구소 GLP 연구 C동 동물실험실

소재지: 충청북도 음성군 감곡면 성주로 362-20

2.8. 시험책임자

성명: 엄지영

소속: (주)한국생물안전성연구소 독성연구팀

1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13. 14. 15. 16. 17. 18. 19. 20. 21. 22. 23. 24. 25. 26. 27. 28. 29. 30. 31. 32. 33. 34. 35. 36. 37. 38. 39. 40. 41. 42. 43. 44. 45. 46. 47. 48. 49. 50. 51. 52. 53. 54. 55. 56. 57. 58. 59. 60. 61. 62. 63. 64. 65. 66. 67. 68. 69. 70. 71. 72. 73. 74. 75. 76. 77. 78. 79. 80. 81. 82. 83. 84. 85. 86. 87. 88. 89. 90. 91. 92. 93. 94. 95. 96. 97. 98. 99. 100.

2.9. 시험관계자

시험물질의 조제: 염지영
시험물질의 노출: 염지영, 유성민
관찰/측정/평가: 염지영, 유성민
동물사육관리: 염지영, 유성민

2.10. 시험일정

동물입수일: 2024년 09월 24일
검역순화기간: 2024년 09월 24일 ~ 2024년 10월 08일 (1단계시험)
2024년 09월 24일 ~ 2024년 10월 15일 (2단계시험)
시험물질 투여일: 2024년 10월 08일 (1단계시험)
2024년 10월 15일 (2단계시험)
일반증상관찰기간: 2024년 10월 08일 ~ 2024년 10월 22일 (1단계시험)
2024년 10월 15일 ~ 2024년 10월 29일 (2단계시험)
부검일: 2024년 10월 22일 (1단계시험)
2024년 10월 29일 (2단계시험)
최종보고서 제출일: 2024년 12월 26일

2.11. 시험물질의 보관

본 시험에 사용한 시험물질은 당 연구소 시험물질 보관고에 보관하였다.
시료번호: 24-1-027
시험물질보관기간: 유기농업자재 공시 후 3년

2.12. 시험자료의 보관

본 시험의 시험기초자료 및 관계시험성적서는 당 연구소 자료보관실에 보관하였다.
시험번호: ATO-24020
시험기초자료: 자료보관실
최종보고서: 자료보관실
자료하드디스크: 자료보관실
자료보관기간: 유기농업자재 공시 후 3년
자료관리담당자: 박동혁

본 시험의 시험기초자료 및 관계시험성적서는 당 연구소 자료보관실에 보관하였다.

3. 시험재료 및 방법 [Materials and methods]

3.1. 시험물질

- 3.1.1. 물질명: 토탈씩
- 3.1.2. 입수일: 2024년 08월 22일
- 3.1.3. 입수량: 1.5 kg
- 3.1.4. 시료번호: 24-1-027
- 3.1.5. 성상 및 외관: 고상, 회색
- 3.1.6. 주원료: 낭독추출물, 자몽종자추출물
- 3.1.7. 주원료 투입비율: 20% (낭독추출물 10%+자몽종자추출물 10%)
- 3.1.8. 보관조건: 상온
- 3.1.9. 공급원: ㈜케이엔텍

3.2. 실험동물

3.2.1. 시험계

- Rat: Sprague-Dawley (SD), SPF

3.2.2. 공급원

- 명칭: 한림실험동물연구소
- 소재지: 경기도 화성시 정남면 괴랑2길 46-23
- 연락처: 031-366-6938

3.2.3. 시험계의 선택사유

농촌진흥청 고시 제2024-13호 인축 독성 시험기준과 방법에 실험동물로 랫드를 추천하고 있으며, 본 계통에 대한 기초자료가 충분히 축적되어 있으므로 시험결과 해석 및 평가가 용이하여 선택하였다.

3.2.4. 주령 및 체중범위

[표 1. 실험동물의 주령 및 체중범위]

| 시험물질 투여 시 | 1단계
(2000 mg/kg B.W.) | 2단계
(2000 mg/kg B.W.) |
|-----------|--------------------------|--------------------------|
| 주령(주) | 8 | 9 |
| 체중(g) | 195.9 ~ 209.1 | 210.2 ~ 230.0 |

3.2.5. 순화 및 검역

동물 입수 후 1단계 및 2단계 시험은 각각 14일, 21일 동안 동물실험실의 환경 하에서 순화시키면서 일반 건강상태를 관찰하여 건강한 개체를 선별, 본 시험에 사용하였다.

본 시험은 동물실험실의 환경 하에서 순화시키면서 일반 건강상태를 관찰하여 건강한 개체를 선별, 본 시험에 사용하였다.

3.3. 사육환경 및 관리

3.3.1. 사육환경

본 시험의 사육환경은 온도 $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $50\pm 20\%$, 환기시설 (공조기), 조명시간 12시간 (오전8시~오후8시)의 실험실 조건에서 사료와 음용수를 급여하여 순화 및 시험기간 동안 격리 사육하였다.

3.3.2. 사육상자

순화 및 시험기간 중 폴리카보네이트 사육상자 ($260\times 420\times 180$ mm)에 3마리씩 넣어 깔짚을 깔아 사육하였다.

3.3.3. 사료 및 음용수

사료는 방사선 멸균된 사료 [LabDiet]를 자유 급식시켰으며 음용수는 정수필터 통과 및 자외선 살균한 수도수를 자유 섭취시켰다.

3.4. 시험약량 수준설정 및 시험용액 조제

3.4.1. 시험약량 수준설정

본 시험물질은 당연구소에서 수행한 유기농업자재 시험자료들을 검토하여 1단계 시험에서 최고투여약량인 2000 mg/kg B.W. 로 투여하였고, 투여 후 치사 및 일반증상이 관찰되지 않아, 동일한 농도로 투여약량을 설정하여 2단계 시험을 실시하였다.

3.4.2. 실험동물 수 / 개체식별

실험동물 수는 각 단계별 암컷 3마리를 1군으로 하였으며, 개체식별은 유성매직을 사용하여 각 개체의 미부에 표시하고, 사육상자에 개체식별 라벨을 부착하여 식별하였다.

3.4.3. 용매대조군의 설정

멸균수로 시험물질을 조제하여 용매대조군은 따로 설정하지 않았다.

3.4.4. 용매의 선택과 시험용액 조제

- 1단계 / 2단계 시험 (2000 mg/kg B.W.)

시험용액은 1단계 및 2단계 시험에서 투여직전 각각 동일하게 조제하여 시험에 사용하였고, 시험용액 조제 시 용매는 멸균수를 사용하였으며 고상인 시험물질을 막자사발을 이용하여 분쇄하고 표준체 (standard test sieve, $250\text{ }\mu\text{m}$)로 통과시켜 미세한 분말로 만들고 저울로 2.000 g 을 정확히 칭량하여 10 mL 의 volumetric flask에 넣고 멸균수를 표선까지 정용한 후 vortex로 충분히 현탁하여 시험용액 (test solution)으로 사용하였다.

3.4.5. 투여액량 (volume) 설정

투여액량은 10 mL/kg B.W. 로 설정하였다.

본 시험은 KBSI
Korea Bio Safety Institute
에서 수행되었습니다.

3.5. 시험물질의 투여

3.5.1. 사료의 절식

시험물질 투여개시 하룻밤 전부터, 시험물질 투여 후 3시간 동안은 먹이를 주지 않았다.

3.5.2. 투여경로 및 투여방법

랫드 경구투여용 존데 (zonde)를 이용하여 투여 전 체중 측정치를 기준으로 시험물질 투여약량을 산출한 후, 경구투여 경로로 위내 1회에 한하여 강제 투여하였다.



4. 관찰 및 측정 [Observation and determination]

4.1. 일반증상 및 치사동물 관찰

투여 당일은 처리 후 30분, 1시간에서 4시간까지 매 시간마다 일반증상 및 치사동물을 관찰하였으며, 익일부터는 매일 1회씩, 투여 개시 후 14일째까지 관찰 및 조사하였다.

4.2. 체중 측정

모든 실험동물에 대하여 시험물질 투여 직전에 체중을 측정하였고, 생존한 동물에 한하여 투여 후 3일, 7일, 관찰종료일인 14일째 개체별 체중을 측정하였다.

4.3. 부검

실험종료일에 모든 개체에 대하여 부검을 실시하였다.

4.4. 반수치사약량 (LD₅₀) 산출

농촌진흥청 고시 농약 및 원제의 등록기준에 따라 시험을 실시하여 LD₅₀을 산출하였으며, 농약관리법 시행규칙 [별표 3의5] 농약등의 독성 및 잔류성정도별 구분에 준하여 독성을 구분하였다.

[표 2. 급성독성정도에 따른 농약 등의 구분]

| 구 분 | 시험동물의 반수를 죽일 수 있는 양 (mg/kg B.W.) | |
|--------------|----------------------------------|-----------------|
| | 급성경구 | |
| | 고 체 | 액 체 |
| I 급 (맹독성) | 5 미만 | 20 미만 |
| II 급 (고독성) | 5 이상, 50 미만 | 20 이상, 200 미만 |
| III 급 (보통독성) | 50 이상, 500 미만 | 200 이상, 2000 미만 |
| IV 급 (저독성) | 500 이상 | 2000 이상 |

※ 고체 및 액체의 분류는 농약 등의 물리적 상태에 의함.

5. 시험결과 [Results]

5.1. 일반증상 및 치사동물 (Table 1, 2)

토탈삭은 1단계 및 2단계 시험 투여약량 2000 mg/kg B.W.에서 일반증상을 보이거나 치사한 개체가 관찰되지 않았다.

5.2. 체중 변화 (Table 3)

1단계 및 2단계 시험군의 모든 실험동물은 시간이 경과함에 따라 체중이 증가하였다.

5.3. 부검소견 (Table 4)

관찰종료 후 모든 단계의 실험동물을 CO₂ gas로 안락사시켜 주요 장기에 대한 육안적 관찰을 실시한 결과 약제투여에 의한 특이한 이상증상은 관찰되지 않았다.

5.4. 반수치사약량 (LD₅₀)

급성경구독성시험 결과, LD₅₀값은 2000 mg/kg B.W. 초과이었다.

5.5. 급성경구독성시험의 결과

토탈삭은 급성경피독성시험으로 평가한 결과, 농약관리법 시행규칙 [별표 3의5] 농약등의 독성 및 잔류성정도별 구분에 의거 IV급 (저독성)으로 구분되었다.

토탈삭은 급성경구독성시험으로 평가한 결과, 농약관리법 시행규칙 [별표 3의5] 농약등의 독성 및 잔류성정도별 구분에 의거 IV급 (저독성)으로 구분되었다.

6. 참고문헌 [References]

- 농촌진흥청 고시 제2024-13호 “농약 및 원제의 등록기준” [별표 12] 인축 독성 시험기준과 방법, 12-1-20. 급성경구독성시험 (급성독성등급법) (2024.07.04)
- 국립농산물품질관리원 고시 제2020-20호 “유기농업자재 공시 기준” (2020.12.08)
- OECD Guideline for the Testing of Chemicals, No. 423 “Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method” (2001.12.17)
- 농림축산식품부령 제654호 “농약관리법 시행규칙” [별표 3의5] 농약등의 독성 및 잔류성정도별 구분 (2024.05.07)

본 보고서의 내용은 농촌진흥청의
연구결과를 토대로 작성된 것으로,
농촌진흥청의 정책 결정에
참조될 수 있는 자료로 활용
됩니다.

7. Tables

Table 1. Mortality of rats (1/2)

| Group | Dose
(mg/kg
B.W.) | Sex | Number
of
animals | Days after administration | | | | | | | | | |
|-------|-------------------------|--------|-------------------------|---------------------------|-----|-----|-----|-----|---|---|---|---|---|
| | | | | 0 | | | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| | | | | 30
min | 1hr | 2hr | 3hr | 4hr | | | | | |
| 1 | 2000 | Female | 3 | 0 ^a | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 2000 | Female | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

a : Number of dead animals

Table 1. Mortality of rats (2/2)

| Group | Dose
(mg/kg
B.W.) | Sex | Number
of
animals | Days after administration | | | | | | | | |
|-------|-------------------------|--------|-------------------------|---------------------------|---|---|---|----|----|----|----|----|
| | | | | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| 1 | 2000 | Female | 3 | 0 ^a | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 2000 | Female | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

a : Number of dead animals

14

Table 2. Clinical signs of rats (1/2)

| Group | Dose
(mg/kg
B.W.) | Sex | Animal
number | Days after administration | | | | | | | | | |
|-------|-------------------------|--------|------------------|---------------------------|-----|-----|-----|-----|---|---|---|---|---|
| | | | | 0 | | | | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| | | | | 30
min | 1hr | 2hr | 3hr | 4hr | | | | | |
| 1 | 2000 | Female | 1 | N ^a | N | N | N | N | N | N | N | N | N |
| | | | 2 | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N |
| | | | 3 | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N |
| 2 | 2000 | Female | 1 | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N |
| | | | 2 | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N |
| | | | 3 | N | N | N | N | N | N | N | N | N | N |

a : Normal

Table 2. Clinical signs of rats (2/2)

| Group | Dose
(mg/kg
B.W.) | Sex | Animal
number | Days after administration | | | | | | | | | |
|-------|-------------------------|--------|------------------|---------------------------|---|---|---|----|----|----|----|----|--|
| | | | | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | |
| 1 | 2000 | Female | 1 | N ^a | N | N | N | N | N | N | N | N | |
| | | | 2 | N | N | N | N | N | N | N | N | N | |
| | | | 3 | N | N | N | N | N | N | N | N | N | |
| 2 | 2000 | Female | 1 | N | N | N | N | N | N | N | N | N | |
| | | | 2 | N | N | N | N | N | N | N | N | N | |
| | | | 3 | N | N | N | N | N | N | N | N | N | |

a : Normal

Table 3. Body weights

(unit : g)

| Group | Dose
(mg/kg
B.W.) | Sex | Animal
number | Days after administration (g) | | | | |
|-------------------|-------------------------|--------|------------------|-------------------------------|-------|-------|-------|------|
| | | | | 0 | 3 | 7 | 14 | Gain |
| 1 | 2000 | Female | 1 | 209.1 | 225.0 | 237.8 | 249.2 | 40.1 |
| | | | 2 | 195.9 | 210.8 | 222.7 | 232.0 | 36.1 |
| | | | 3 | 207.1 | 219.9 | 231.3 | 237.1 | 30.0 |
| Mean | | | | 204.0 | 218.6 | 230.6 | 239.4 | 35.4 |
| S.D. ^a | | | | 7.1 | 7.2 | 7.6 | 8.8 | - |
| 2 | 2000 | Female | 1 | 230.0 | 242.5 | 257.1 | 266.8 | 36.8 |
| | | | 2 | 214.5 | 223.5 | 235.9 | 248.2 | 33.7 |
| | | | 3 | 210.2 | 229.9 | 237.3 | 244.9 | 34.7 |
| Mean | | | | 218.2 | 232.0 | 243.4 | 253.3 | 35.1 |
| S.D. _c | | | | 10.4 | 9.7 | 11.9 | 11.8 | - |

a : Standard Deviation

Table 4. Macroscopical findings necropsy

| Phase | Dose
(mg/kg
B.W.) | Sex | Animal
number | Necropsy day | Findings |
|-------|-------------------------|--------|------------------|------------------------|-------------------|
| 1 | 2000 | Female | 1 | 14 day (Oct. 22, 2024) | No Findings Noted |
| | | | 2 | 14 day (Oct. 22, 2024) | No Findings Noted |
| | | | 3 | 14 day (Oct. 22, 2024) | No Findings Noted |
| 2 | 2000 | Female | 1 | 14 day (Oct. 29, 2024) | No Findings Noted |
| | | | 2 | 14 day (Oct. 29, 2024) | No Findings Noted |
| | | | 3 | 14 day (Oct. 29, 2024) | No Findings Noted |