

최종보고서

랫드를 이용한 토탈삭의 급성경피독성시험

ATP-24019



(주)한국생물안전성연구소



제 출 문

시험물질 : 토탈삭

시험제목 : 랫드를 이용한 토탈삭의 급성경피독성시험

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

2024년 12월 26일

(주)한국생물안전성연구소

시험책임자 염 지 영 서명 

~ ~ ~ ~ ~

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 처리량	9
3.5. 시험물질의 처리	9
4. 관찰 및 측정 [Observation and determination]	10
4.1. 일반증상 및 치사동물 관찰	10
4.2. 체중 측정	10
4.3. 피부반응의 평가	10
[표 2. 피부반응 평가표]	10
4.4. 부검	10
4.5. 반수치사약량 (LD ₅₀) 산출	11
[표 3. 급성독성정도에 따른 농약 등이 구분]	11
5. 시험결과 [Results]	12
5.1. 일반증상 및 치사동물	12



5.2. 체중 변화	12
5.3. 피부반응	12
5.4. 부검소견	12
5.5. 반수치사약량 (LD ₅₀)	12
5.6. 급성경피독성시험의 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 (range-finding study)	16
Table 4. Body weights (main study)	16
Table 5. Evaluation of skin irritation	17
Table 6. Calculation of P.I.I. value	18
Table 7. Macroscopical findings necropsy	19



1. 요약 [Summary]

랫드를 이용한 토탈싹의 급성경피독성시험을 2000 mg/kg B.W.의 약량으로 단회 경피 투여한 후 14일 동안 치사동물수, 일반중독증상, 체중변화를 관찰·조사한 결과는 다음과 같다.

- 시험약량 2000 mg/kg B.W.에서 치사개체가 관찰되지 않았다.
- 시험물질 처리 후 예비시험 및 본시험의 모든 실험동물에서 홍반이 관찰되었고, 그 외 다른 일반증상은 관찰되지 않았다.
- 개체별 체중측정 결과, 모든 개체에서 체중이 시간이 경과함에 따라 증가하였다.
- 시험물질 제거 후 처리부의 국소자극성을 관찰한 결과, 예비시험, 본시험 모든 개체에서 1일째 관찰 시 아주 가벼운 홍반이 관찰되었다. 예비시험 개체는 5일째 관찰 시 소실되었고, 본시험의 모든 개체는 7일째 관찰 시 소실되었다.
- 시험물질 처리 후 72시간까지의 1차 피부자극지수 (P.I.I.)는 "1.0"으로 산출되었다.

이상의 시험결과, 랫드를 이용한 토탈싹의 급성경피독성시험에서 LD₅₀값은 2000 mg/kg B.W. 초과이며, 농약관리법 시행규칙 [별표 3의 5] 농약등의 독성 및 잔류성정도별 구분에 의거 IV급 (저독성)으로 구분되었다.



2. 시험실시의 개요 [Introduction]

2.1. 시험제목

랫드를 이용한 토탈싹의 급성경피독성시험

2.2. 시험물질

토탈싹

2.3. 시험목적

랫드를 이용한 토탈싹의 급성경피독성시험을 통하여 유기농업자재 공시에 관한 기초자료로 활용코자 한다.

2.4. 시험방법

농촌진흥청 고시 제2024-13호 “농약 및 원제의 등록기준” [별표 12] 인축독성시험 기준과 방법 중 12-1-24. 급성경피독성시험 (고정용량법)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



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 (예비)
2024년 09월 24일 ~ 2024년 10월 15일 (본)
시험동물 제모일: 2024년 10월 07일 (예비)
2024년 10월 14일 (본)
시험물질 처리일: 2024년 10월 08일 (예비)
2024년 10월 15일 (본)
일반증상관찰기간: 2024년 10월 08일 ~ 2024년 10월 22일 (예비)
2024년 10월 15일 ~ 2024년 10월 29일 (본)
부검일: 2024년 10월 22일 (예비)
2024년 10월 29일 (본)
최종보고서 제출일: 2024년 12월 26일

2.11. 시험물질의 보관

본시험에 사용한 시험물질은 당 연구소 시험물질보관고에 보관하였다.
시료번호: 24-1-027
시험물질보관기간: 유기농업자재 공시 후 3년

2.12. 시험자료의 보관

본시험의 시험기초자료 및 관계시험성적서는 당 연구소 자료보관실에 보관하였다.
시험번호: ATP-24019
시험기초자료: 자료보관실
최종보고서: 자료보관실
자료하드디스크: 자료보관실
자료보관기간: 유기농업자재 공시 후 3년
자료관리담당자: 박동혁



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: (주)케이엔텍

3.2. 실험동물

3.2.1. 시험계

- Rat: Sprague-Dawley (SD), SPF

3.2.2. 공급원

- 명칭: 한림실험동물연구소
- 소재지: 경기도 화성시 정남면 패랑2길 46-23
- 연락처: 031-366-6938

3.2.3. 시험계의 선택사유

농촌진흥청 고시 제2024-13호 인축독성시험 기준과 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]

시험약제 투여 시	예비시험 (2000 mg/kg B.W.)	본시험 (2000 mg/kg B.W.)
주령 (주)	9	10
체중 (g)	216.3	229.3, 223.7

3.2.5. 순화 및 검역

동물 입수 후 예비 및 본시험으로 각각 14일, 21일 동안 동물실험실의 환경 하에서 순화시키면서 일반 건강 상태를 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 실험실조건에서 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 예비시험 1마리, 본시험 2마리씩 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 처리량

3.4.1. 시험약량 수준설정

본 시험물질은 당연구소에서 수행한 유기농업자재 시험자료들을 검토하여 투여약량 2000 mg/kg B.W.로 예비시험을 수행한 결과, 치사가 관찰되지 않아 동일한 약량으로 본시험을 실시하였다.

3.4.2. 실험동물 수 / 개체식별

실험동물 수는 예비시험 암컷 1마리, 본시험 암컷 2마리로 하였으며, 개체식별은 유성매직을 사용하여 각 개체의 미부에 표시하고, 사육상자에 개체식별 라벨을 부착하여 식별하였다.

3.4.3. 처리량

- 예비시험 및 본시험 (2000 mg/kg B.W.)

고상인 시험물질을 막자사발을 이용하여 분쇄하고 표준체 (standard test sieve, $250\ \mu\text{m}$)로 통과시켜 미세한 분말로 만들어 사용하였고, 개체별 처리량은 처리 당일의 체중을 기준으로 산출하였다.

3.5. 시험물질의 처리

3.5.1. 처리경로 및 처리방법

실험동물은 시험물질처리 하루 전에 등 부위에 제모기를 이용하여 충분한 넓이를 제모하고 체표면적의 10% 정도 면적에 해당하는 거즈에 시험용액을 균일하게 묻힌 다음 제모된 부위에 coban (self-adherentwrap, 3M)으로 고정/유지 시켰다.

3.5.2. 시험물질의 제거

실험동물의 등 부위에 도포시킨 시험물질은 24시간 후 제거하고 피부에 묻은 잔여 물질은 증류수와 탈지면으로 잘 닦아내었다.



4. 관찰 및 측정 [Observation and determination]

4.1. 일반증상 및 치사동물 관찰

처리 당일은 처리 후 30분, 2시간에서 6시간까지 매 시간마다 일반증상 및 치사동물의 유·무를 관찰하였으며, 익일부터는 매일 1회씩, 처리 후 14일째까지 관찰 및 조사하였다.

4.2. 체중 측정

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

4.3. 피부반응의 평가

피부반응의 평가는 [표 2. 피부반응 평가표]에 준하여 실시하였다.

[표 2. 피부반응 평가표]

(1) 홍반과 가피형성	
홍반이 전혀 없음	0
아주 가벼운 홍반 (육안으로 겨우 식별할 정도)	1
명확한 홍반	2
중간정도부터 심한 홍반	3
심한 홍반과 홍반을 평가할 수 없을 정도의 가피형성	4
총 가능한 홍반과 가피 점수	4
(2) 부종형성 평점	
부종이 전혀 없음	0
아주 가벼운 부종 (육안으로 겨우 식별할 정도)	1
가벼운 부종 (뚜렷하게 부어올라서 노출부위가 분명히 구별될 정도)	2
중간정도의 부종 (약 1 mm 정도 부어오른 상태)	3
심한 부종 (1 mm 이상 부어오르고 노출부위 밖까지 확장된 상태)	4
총 가능한 부종 점수	4

4.4. 부검

관찰종료일에 모든 실험동물에 대하여 부검을 실시하였다.



4.5. 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 3. 급성독성정도에 따른 농약 등의 구분]

구 분	시험동물의 반수를 죽일 수 있는 양 (mg/kg B.W.)	
	급성경피	
	고 체	액 체
I 급 (맹독성)	10 미만	40 미만
II 급 (고독성)	10 이상, 100 미만	40 이상, 400 미만
III 급 (보통독성)	100 이상, 1000 미만	400 이상, 4000 미만
IV 급 (저독성)	1000 이상	4000 이상

※ 고체 및 액체의 분류는 농약 등의 물리적 상태에 의함.



5. 시험결과 [Results]

5.1. 일반증상 및 치사동물 (Table 1, 2)

토탈삭은 투여약량 2000 mg/kg B.W.로 경피 노출한 결과 예비시험, 본시험의 모든 개체에서 1일째 관찰 시 홍반이 관찰되었고, 예비시험 개체는 5일째, 본시험 개체들은 7일째 관찰 시 소실되었다. 그 외 다른 일반증상을 보이거나 치사한 개체가 관찰되지 않았다.

5.2. 체중 변화 (Table 3, 4)

예비시험 및 본시험의 모든 실험동물은 시간이 경과함에 따라 체중이 증가하였다.

5.3. 피부반응 (Table 5, 6)

시험동물에 시험물질 노출 종료 시부터 14일째까지 [표 2. 피부반응 평가표]를 이용하여 피부반응을 관찰한 결과, 예비시험과 본시험 모든 개체에서는 1일째 관찰 시 아주 가벼운 홍반이 관찰되었다. 예비시험 개체는 5일째 관찰 시 홍반이 소실되었고, 본시험 개체들은 7일째 관찰 시 홍반이 소실되었다. 시험물질 처리 후 24, 72 시간 관찰 시 피부반응 결과로 산출한 예비시험과 본시험에 대한 1차 피부자극지수 (P.I.I.)는 "1.0"으로 산출되었다.

5.4. 부검소견 (Table 7)

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

5.5. 반수치사약량 (LD₅₀)

급성경피독성시험 (고정용량법) 결과, LD₅₀값은 2000 mg/kg B.W. 초과이었다.

5.6. 급성경피독성시험의 결과

토탈삭은 급성경피독성시험으로 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] 인축독성시험 기준과 방법, 12-1-24. 급성경피독성시험 (고정용량법) (2024.07.04)
- 국립농산물품질관리원 고시 제2020-20호 "유기농업자재 공시 기준" (2020.12.08)
- OECD Guideline for the Testing of Chemicals, No. 402 "Acute Dermal Toxicity: Fixed Dose Procedure" (2017.10.09)
- 농림축산식품부령 제654호 "농약관리법 시행규칙" [별표 3의5] 농약등의 독성 및 잔류성정도별 구분 (2024.05.07)



7. Tables

Table 1. Mortality of rats (1/2)

Division	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Number of animals	Days after administration										
				0						1	2	3	4	5
				30 min	2hr	3hr	4hr	5hr	6hr					
Range- finding study	2000	Female	1	0 ^a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Main study	2000	Female	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a : Number of dead animals

Table 1. Mortality of rats (2/2)

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

a : Number of dead animals



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

Division	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Animal number	Days after administration										
				0						1	2	3	4	5
				30 min	2hr	3hr	4hr	5hr	6hr					
Range- finding study	2000	Female	1	N ^a	N	N	N	N	N	E ^b	E	E	E	N
Main study	2000	Female	2	N	N	N	N	N	N	E	E	E	E	E
			3	N	N	N	N	N	N	E	E	E	E	E

a : Normal

b : Erythema

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

Division	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Number of animals	Days after administration								
				6	7	8	9	10	11	12	13	14
Range- finding study	2000	Female	1	N ^a	N	N	N	N	N	N	N	N
Main study	2000	Female	2	E ^b	N	N	N	N	N	N	N	N
			3	E	N	N	N	N	N	N	N	N

a : Normal

b : Erythema



Table 3. Body weights (range-finding study)

(unit : g)

Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Animal number	Days after administration (g)				
			0	3	7	14	Gain
2000	Female	1	216.3	220.9	228.0	240.7	24.4

Table 4. Body weights (main study)

(unit : g)

Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Animal number	Days after administration (g)				
			0	3	7	14	Gain
2000	Female	2	229.3	236.2	262.9	273.6	44.3
		3	223.7	236.2	259.8	267.1	43.4
Mean			226.5	236.2	261.4	270.4	43.9
S.D. ^a			4.0	0.0	2.2	4.6	-

a : Standard deviation



Table 5. Evaluation of skin irritation (1/2)

Division	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Skin responses	Animal number	Days after administration						
					0			4	5	6	7
					24hr	48hr	72hr				
Range- finding study	2000	Female	Erythema & Eschar	1	1	1	1	1	0	0	0
			Edema	1	0	0	0	0	0	0	0
Main study	2000	Female	Erythema & Eschar	2	1	1	1	1	1	1	0
				3	1	1	1	1	1	1	0
			Edema	2	0	0	0	0	0	0	0
				3	0	0	0	0	0	0	0

Table 5. Evaluation of skin irritation (2/2)

Division	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Skin responses	Animal number	Days after administration						
					8	9	10	11	12	13	14
Range- finding study	2000	Female	Erythema & Eschar	1	0	0	0	0	0	0	0
			Edema	1	0	0	0	0	0	0	0
Main study	2000	Female	Erythema & Eschar	2	0	0	0	0	0	0	0
				3	0	0	0	0	0	0	0
			Edema	2	0	0	0	0	0	0	0
				3	0	0	0	0	0	0	0



Table 6. Calculation of P.I.I. value

Skin responses	Erythema & Eschar		Edema	
Phases ^a	24 hr	72 hr	24 hr	72 hr
1	1	1	0	0
2	1	1	0	0
3	1	1	0	0
Total	3	3	0	0
Mean	1.0	1.0	0.0	0.0
Sum ^b	2.0			
P.I.I. ^c	1.0			

a : Time after topical treatment

b : Sum of means at 24 and 72hr

c : P.I.I. (Primary Irritation Index) = Sum/2



Table 7. Macroscopical findings necropsy

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

))))))))))
))))))))))
))))))))))
))))))))))