

최종보고서

New Zealand White계 토끼를 이용한 토탈씩 플러스의
피부자극성시험

OTD-25014

(주)한국독성시험연구소 **KTTR**

KTTR

제 출 문

시험물질: 토탈씩 플러스

시험제목: New Zealand White계 토끼를 이용한 토탈씩 플러스의 피부자극성시험

상기 독성시험을 “농약 및 원제의 등록기준” [별표 12] 인축독성시험 기준과 방법 (농촌진흥청 고시 제2025-13호)에 준하여 실시하고 그 결과를 다음과 같이 제출합니다.

2025년 10월 01일

(주)한국독성시험연구소

시험책임자 조인선 서명 

KTTR

목 차

보고서표지	1
제출문	2
목차	3
요약	5
1. 시험실시의 개요	6
1.1. 시험제목	6
1.2. 시험물질	6
1.3. 시험목적	6
1.4. 시험방법	6
1.5. 시험의뢰자	6
1.6. 시험기관	6
1.7. 시험장소	6
1.8. 시험책임자	6
1.9. 시험관계자	7
1.10. 시험일정	7
1.11. 시험물질의 보관	7
1.12. 시험자료의 보관	7
2. 시험재료 및 방법	8
2.1. 시험물질	8
2.2. 시험동물	8
[표 1. 시험동물의 체중범위]	8
2.3. 사육환경 및 관리	9
2.4. 시험물질의 처리	9
3. 관찰 및 측정	11
3.1. 일반중독증상 및 치사	11
3.2. 체중측정	11
3.3. 처리부위 관찰	11
3.4. 피부반응의 평가 및 자극성의 판정	11
[표 2. 피부반응 평가표]	11
[표 3. 피부 1차 자극표]	12
4. 시험결과	13
5.1. 일반중독증상 및 치사동물 수	13
5.2. 체중변화	13
5.3. 피부반응의 평가	13
5.4. 자극성의 판정	13

5. 참고문헌	14
6. Tables	15
Table 1. Mortality and clinical signs	15
Table 2. Body weight changes	16
Table 3. Evaluation of skin irritation	17

요 약

New Zealand White계 토끼를 이용한 토탈썩 플러스의 피부자극성시험을 실시하여 일반중독증상, 치사, 체중변화 및 피부자극성을 관찰·조사하였다.

본 시험은 농촌진흥청 고시 제2025-13호 “농약 및 원제의 등록기준” [별표 12] “인축 독성 시험기준과 방법” 중 12-1-4. 피부자극성 시험에 따라 수행되었다.

본 시험의 관찰 결과는 다음과 같다.

- 시험기간 중 시험물질의 처리에 기인된 치사개체가 관찰되지 않았다.
- 일반증상 관찰 시 시험물질의 처리에 기인된 중독증상이 관찰되지 않았다.
- 개체별 체중결과, 시간이 경과함에 따라 증가추세를 보였다.
- 시험물질 제거 후 처리부의 국소자극성을 관찰한 결과, 피부자극이 관찰되지 않았다.
- 관찰 후 24, 48 및 72 시간의 홍반 및 가피, 부종의 평균점수는 모두 “0.0”이었다.

이상의 결과, New Zealand White계 토끼를 이용한 피부자극성시험에서 토탈썩 플러스는 [표 3. 피부 1차 자극표]에 의거 자극성 없는 물질인 것으로 구분되었다.

[illegible]

1.10. 시험일정

동물입수일	2025년 08월 25일(초기, 확인)
검역순화기간	2025년 08월 25일 ~ 2025년 08월 31일(초기) 2025년 08월 25일 ~ 2025년 09월 07일(확인)
시험동물 제모일	2025년 08월 31일(초기) 2025년 09월 07일(확인)
시험물질 처리일	2025년 09월 01일(초기) 2025년 09월 08일(확인)
일반증상관찰기간	2025년 09월 01일 ~ 2025년 09월 15일(초기) 2025년 09월 08일 ~ 2025년 09월 15일(확인)
실험종료일	2025년 09월 15일(초기) 2025년 09월 15일(확인)
최종보고서 제출일	2025년 10월 01일

1.11. 시험물질 보관

본 시험에 사용한 시험물질은 당 연구소 시험물질보관고에 보관하였다.

시료번호	25-A-OT-019
시험물질보관기간	유기농업자재 공시 후 3년

1.12. 자료보관

본 시험의 시험기초자료 및 시험성적서는 당 연구소 자료보관실에 보관하였다

시험번호	OTD-25014
시험기초자료	자료보관실
최종보고서	자료보관실
자료하드디스크	자료보관실
자료보관기간	유기농업자재 공시 후 3년
자료관리담당자	조인선

2. 재료 및 방법

2.1 시험물질

2.1.1. 물질명	토탈삭 플러스
2.1.2. 입수일	2025년 08월 06일
2.1.3. 입수량	200 mL
2.1.4. 시료번호	25-A-OT-019
2.1.5. 성상 및 외관	액상, 연갈색
2.1.6. 주원료	자몽종자추출물, 낭독추출물
2.1.7. 주원료 투입비율	자몽종자추출물 45%, 낭독추출물 45%
2.1.8. 보관조건	실온
2.1.9. 공급원	주식회사 케이엔텍

2.2. 시험동물

2.2.1. 시험계 New Zealand White계 토끼(4~5개월령, 수컷 3마리)

2.2.2. 공급원

- 명칭 한림실험동물연구소
- 소재지 경기도 화성시 정남면 괴량2길 46-23
- 연락처 031-366-6938

2.2.3. 시험계의 선택사유

농촌진흥청 고시 제2025-13호 인축독성시험 기준과 방법에 백색토끼를 사용하도록 되어 있으며 New Zealand White계 토끼는 농약의 독성시험에 널리 사용되고 있어 기초자료가 충분히 축적되어 있으므로 시험결과 해석 및 평가가 용이하여 선택하였다.

2.2.4. 체중범위

[표 1. 시험동물의 체중범위]

구 분	입수시 체중(kg)	처리시 체중(kg)
비세척군	1.8 ~ 2.0	2.0 ~ 2.3

2.2.5. 순화 및 검역

동물을 구입한 후 초기 및 확인시험 시 각각 7일, 14일 동안 비설치류 실험실의 환경하에서 순화시키면서 일반 건강상태를 관찰하여 건강한 개체만을 시험에 이용하였다.

2.2.6. 군분리

제모를 실시하여 피부에 이상이 없는 동물만 선택하여 시험하였다.

2.2.7. 개체식별

사육 상자에 개체식별정보를 부착하여 식별하였다.

2.2.8. 동물윤리



본 시험은 동물보호법(법률 제20581호, 2024.12.20)에 따라 (주)한국독성시험연구소 동물실험윤리위원회 규정을 준수하여 실시하였다(동물실험계획 승인서 승인번호: AGRN25068).

2.3. 사육환경 및 관리

2.3.1. 사육환경

사육온도:	20±3℃
습도:	50±20%
조명주기:	12시간 (오전 8시~오후 8시)
조도:	150~300 Lux
사육상자:	Stainless steel 사육상자(480×600×420 mm)
환기시설:	공조기

2.3.2. 사료

사료는 토끼용 펠릿사료[Cargill Agri Purina Korea Inc.]를 자유급식 시켰으며, 공급업체로부터 성적서를 받아 관리하였다.

2.3.3. 음용수

음용수는 정수필터 통과한 정수물을 자유 섭취시켰다(경기도 보건환경연구원 정수물 수질검사 분석결과 기준에 적합, 2025.05.29.~ 2025.06.02).

2.4. 시험물질의 처리

2.4.1. 시험군의 구성

실험동물은 건강하고 어린 동물로서 초기시험 1마리, 확인시험 2마리를 사용하였다.

2.4.2. 시험물질 조제

시험물질이 액상으로 조제하지 않고 처리부위에 직접 처리하였다.

2.4.3. 처리량 설정

처리량은 처리 군별 공비 0.5 mL로 설정하였다.

2.4.4. 처리방법

실험동물은 시험물질 처리 24시간 전에 전기면도기를 이용하여 경배부 (등 부위)의 털을 15×15 cm 넓이로 제모한 다음 건강하고 깨끗한 피부를 가진 동물만을 사용하였다. 2×3 cm로 절개한 거즈를 이용하여 0.5 mL의 시험물질을 처리부위에 도포하고 시험물질의 유실 및 방출을 방지하기 위해 비자극성테이프 (Tegaderm™, 3M社)와 Coban™ (self-adherent wrap, 3M社)으로 고정 및 유지시켜 시험물질이 경구 및 안점막 등 타 경로로 유입되지 않게 처리하였다. 대조부위는 증류수로 처리하여 처리부위와 증상관찰 비교 용도로 활용하였다.

2.4.5. 시험물질의 제거

초기시험은 3개의 시험물질 철폐를 순차적으로 적용하여 각각 3분, 1시간, 4시간

후 패치를 제거하고 확인시험은 단일 첩포를 4시간 노출 후 제거하여 피부에 묻은 잔여물질은 증류수로 세척하여 모두 제거한 후 의료용 탈지면으로 물기를 흡수시킨 다음 케이지에 넣어 두었다.

3. 관찰 및 측정

3.1. 일반중독증상 및 치사

시험물질 처리 후 14일까지 일반증상의 변화, 중독증상 및 치사동물의 유·무를 관찰하였다.

3.2. 체중 측정

시험물질 처리직전과 처리 후 48, 72시간, 7일 및 14일째 개체별 체중을 측정하였다.

3.3. 처리부위 관찰

시험물질 도포 종료 후 1, 24, 48, 72시간, 7일 및 14일까지 부종, 홍반 및 가피형성 유·무를 관찰하였고, 초기시험은 확인시험 여부를 판정하기 위해 각각 3분, 1시간, 4시간 후 첩포를 제거한 뒤 피부 반응을 관찰하였다.

3.4. 피부반응의 평가 및 자극성의 판정

피부반응의 평가는 [표 2. 피부반응 평가표]에 준하여 실시하였고 결과에 대한 자극성은 [표 3. 피부 1차 자극표]의 자극성기준에 따라 자극성을 판정하였다.

[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

[표 3. 피부 1차 자극표]

구분	분류기준
강도	다음 어느 하나에 해당하는 물질 ① pH 2 이하 또는 pH 11.5 이상인 물질 ② 동물시험 결과 3마리 중 1마리 이상에서 시험 물질 노출 즉시 또는 4시간 노출 중에 피부 손상(부식 세포손상 등)이 나타나고 관련 증상이 14일까지 지속되는 경우
중도	다음 어느 하나에 해당하는 물질 ① 동물시험(3마리, 최대 4시간 노출 조건) 결과 24, 48 및 72시간에 대한 개체별 평균값이 적어도 2마리에서 해당 범위에 포함될 경우 (단, 반응이 늦게 발현된 경우에는 피부 반응 발생 후 3일간을 연속평가) $2.3 \leq \text{홍반 or 부종 평균값} \leq 4.0$ ② 동물시험(3마리, 최대 4시간 노출 조건) 결과 적어도 2마리의 시험동물에서 통상 14일간의 관찰기간 종료까지 염증, 특히 (제한된 부위에 대한)탈모증, 각화증, 비후(증식), 피부각질화 증상 등이 지속되는 경우
경도	동물시험(3마리, 최대 4시간 노출 조건) 결과 24, 48 및 72시간에 대한 개체별 평균값이 적어도 2마리에서 해당 범위에 포함될 경우 (단, 반응이 늦게 발현된 경우에는 피부 반응 발생 후 3일간을 연속평가) $1.5 \leq \text{홍반 or 부종 평균값} < 2.3$
없음	경도이상 분류기준에 해당하지 않는 경우

4. 시험결과

4.1. 일반중독증상 및 치사동물 수(Table 1.)

모든 시험동물에 있어서 어떠한 일반증상도 관찰되지 않았으며, 치사동물 또한 관찰되지 않았다.

4.2. 체중변화(Table 2.)

시험물질 처리직전, 처리 후 48시간, 72시간, 7일 및 14일에 개체별 체중을 측정한 결과, 시간이 경과함에 따라 증가추세를 보였다.

4.3. 피부반응의 평가(Table 3.)

초기시험 동물에 각각 3분, 1시간, 4시간 후 첩포를 제거한 뒤 피부 반응 관찰 시 증상이 관찰되지 않았다. 따라서 4시간 첩포를 기준으로 시험물질 노출 종료 후 1, 24, 48, 72시간 및 14일까지 [표 2. 피부반응 평가표]를 이용하여 피부반응을 관찰한 결과, 시험물질 처리 후 홍반 및 부종 등의 어떠한 피부반응도 관찰되지 않았다. 초기시험 7일 이후 확인시험을 진행하였으며 확인시험 또한 시험물질 처리 후 7일째 관찰 시까지 홍반 및 부종 등의 어떠한 피부반응도 관찰되지 않았다.

4.4. 자극성의 판정

초기시험과 확인시험을 [표 2. 피부반응 평가표]에 의해 개체별 평균값을 산출한 결과, 각 개체의 24, 48 및 72 시간의 홍반 및 가피, 부종의 평균점수 모두 “0.0” 이었고 [표 3. 피부 1차 자극표]에 의해 자극성을 구분하면 “없음”이었다.

이상의 결과로부터 토탈씩 플러스는 New Zealand White계 토끼의 피부에 처리 시 자극성이 없는 물질로 구분되었다.

5. 참고문헌

- 5.1. 농촌진흥청 고시 제2025-13호 「농약 및 원제의 등록기준」 [별표 12] 인축독성시험 기준과 방법, 12-1-4. 피부자극성 시험(2025.04.09)
- 5.2. 국립농산물품질관리원 고시 제2024-16호 「유기농업자재 공시 업무 규정」 (2024.12.03)
- 5.3. OECD Guideline for the Testing of Chemicals, No. 404 「Acute Dermal Irritation/Corrosion」 (Adopted : July 28, 2015)
- 5.4. 농림축산식품부 법률 제20581호(2024.12.20.) “동물보호법”

6. Tables

Table 1. Mortality and clinical signs

Number of animals	Days after treatment						Mortality
	0 (1hr)	1	2	3	7	14	
1	NOR ^a	NOR	NOR	NOR	NOR	NOR	0/3 ^b
2	NOR	NOR	NOR	NOR	NOR	-	
3	NOR	NOR	NOR	NOR	NOR	-	

a : Normal

b : Number of dead animals/Number of tested animals

KTTR

Table 2. Body weight changes

Number of animals	Days after treatment (g)					
	0	2	3	7	14	Gain
1	2014.2	2063.8	2094.8	2181.5	2253.7	239.5
2	2160.8	2175.3	2198.2	2315.1	-	154.3
3	2235.1	2253.5	2295.3	2401.4	-	166.3
Mean	2136.7	2164.2	2196.1	2299.3	-	-
S.D. ^a	112.4	95.3	100.3	110.8	-	-

a : Standard Deviation

Table 3. Evaluation of skin irritation (1/3)

Sites	Phases	Number of animals	Times after treatment		
			3 min	1hr	4hr
Test sites	Erythema & Eschar	1	0	0	0
	Edema	1	0	0	0

Table 3. Evaluation of skin irritation (2/3)

Sites	Phases	Number of animals	Days after treatment					
			0 (1hr)	1	2	3	7	14
Control sites	Erythema & Eschar	1	0	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0	-
		3	0	0	0	0	0	-
Mean			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-

Sites	Phases	Number of animals	Days after treatment					
			0 (1hr)	1	2	3	7	14
Test sites	Erythema & Eschar	1	0	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0	-
		3	0	0	0	0	0	-
Mean			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	-

Sites	Phases	Number of animals	Days after treatment					
			0 (1hr)	1	2	3	7	14
Control sites	Edema	1	0	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0	-
		3	0	0	0	0	0	-
Mean			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

Sites	Phases	Number of animals	Days after treatment					
			0 (1hr)	1	2	3	7	14
Test sites	Edema	1	0	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0	-
		3	0	0	0	0	0	-
Mean			0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0