

최종보고서

New Zealand White계 토끼를 이용한 토탈씩 플러스의
안점막자극성시험

OTE-25014

(주)한국독성시험연구소 **KTTR**

KTTR

제 출 문

시험물질: 토탈씩 플러스

시험제목: New Zealand White계 토끼를 이용한 토탈씩 플러스의
안점막자극성시험

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

2025년 10월 01일

(주)한국독성시험연구소

시험책임자 조인선 서명 

~ ~ ~ ~ ~
~ ~ ~ ~ ~
~ ~ ~ ~ ~
~ ~ ~ ~ ~

목 차

보고서 표지	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. 시험참여자	6
1.10. 시험일정	7
1.11. 시험물질 보관	7
1.12. 자료보관	7
2. 재료 및 방법	8
2.1. 시험물질	8
2.2. 시험계	8
[표 1. 시험동물의 체중범위]	8
2.3. 사육환경 및 관리	9
2.4. 시험물질의 투여	9
[표 2. 시험군]	9
3. 관찰 및 측정	10
3.1. 일반중독증상 및 치사관찰	10
3.2. 체중측정	10
3.3. 안반응의 평가	10
3.4. 자극성의 평가	10
[표 3. 안반응 평가표]	10
[표 4. 안정막 자극표]	11
4. 시험결과	12
4.1. 일반중독증상 및 치사동물 수	12
4.2. 체중변화	12
4.3. 안반응의 평가 결과	12
4.4. 자극성의 판정	12
5. 참고문헌	13

6. Tables	14
Table 1. Mortality and clinical signs	14
Table 2. Body weight changes	15
Table 3. No eyes washed evaluation of eye irritation(Non-treatment)	16
Table 4. No eyes washed evaluation of eye irritation(Treatment)	17

요 약

New Zealand White계 토끼를 이용한 토탈씩 플러스의 안점막자극성시험을 실시하여 일반증상, 치사, 체중변화 및 안점막 자극증상을 관찰·조사하였다.

본 시험은 농촌진흥청 고시 제2025-13호 “농약 및 원제의 등록기준” [별표 12] “인축 독성 시험기준과 방법” 중 12-1-5. 안점막자극성시험에 따라 수행되었다.

본 시험의 관찰 결과는 다음과 같다.

- 시험물질 투여 후 일반중독증상 및 치사동물은 관찰되지 않았다.
- 시험기간 동안 모든 개체의 체중이 증가하였다.
- 시험물질 투여 후 각 개체의 24, 48 및 72시간의 개체별 평균값을 산출한 결과, 각 개체의 각막혼탁, 홍채반응의 평균점수는 모두 “0.0” 이었고, 결막의 발적 및 부종의 평균점수는 “0.0” 및 “0.0” 이었다.

이상의 결과, New Zealand White계 토끼를 이용한 안점막자극성시험에서 토탈씩 플러스는 [표 4. 안점막 자극표]에 의거 자극성이 없는 물질로 구분되었다.

1. 시험실시의 개요

1.1 시험제목

New Zealand White계 토끼를 이용한 토탈씩 플러스의 안정막자극성시험

1.2 시험물질

토탈씩 플러스

1.3. 시험목적

토끼를 이용한 토탈씩 플러스의 안정막자극성시험을 통하여 유기농업자재 공시에 관한 기초자료로 활용코자 한다.

1.4. 시험방법

농촌진흥청 고시 제2025-13호(2025.07.04.) “농약 및 원제의 등록기준”, 인축독성시험 기준과 방법(농촌진흥청 고시 제2025-13호) 중 12-1-5. 안정막자극성 시험에 준하여 실시하였다.

1.5. 시험의뢰자

명칭 주식회사 케이엔텍
소재지 경기도 화성시 우정읍 만곡동1길 42

1.6. 시험기관

명칭 (주)한국독성시험연구소
소재지 경기도 수원시 권선구 서호로 89 21동 2층
연락처 Tel : 031-297-2915, Fax : 070-4170-4576

1.7. 시험장소

명칭 (주)한국독성시험연구소 비설치류 실험실
소재지 경기도 수원시 권선구 서호로 89, 21동 2층

1.8. 시험책임자

성명 조인선
소속 (주)한국독성시험연구소 독성연구팀

1.9. 시험참여자

시험물질의 조제/노출: 조인선, 김지완, 김동헌
관찰/측정/평가: 조인선, 김동헌, 김지완
동물사육관리: 김동헌

1.10. 시험일정

동물입수일	2025년 08월 25일(초기, 확인)
검역순화기간	2025년 08월 25일 ~ 2025년 08월 31일(초기) 2025년 08월 25일 ~ 2025년 09월 07일(확인)
시험물질 처리일	2025년 09월 01일(초기) 2025년 09월 08일(확인)
일반증상관찰기간	2025년 09월 01일 ~ 2025년 09월 04일(초기) 2025년 09월 08일 ~ 2025년 09월 11일(확인)
시험종료일	2025년 09월 04일(초기) 2025년 09월 11일(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	OTE-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	토탈썩 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. 시험계

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

2.2.2 공급원

명칭 한림실험동물연구소
주소 경기도 화성시 정남면 괴랑2길 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 안점막자극성시험에 널리 사용되고 있으며 본 계통에 대한 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	1.9 ~ 2.1	2.0 ~ 2.3

2.2.5. 검역 및 순화

동물을 구입한 후 초기 및 확인시험 시 각각 7일, 14일 동안 비설치류 실험실의 환경 하에서 순화시키면서 일반 건강상태를 관찰하여 건강한 개체를 선별, 시험에 사용하였다.

2.2.6. 군분리

시험동물은 시험물질 투여 24시간 전에 육안으로 양쪽 눈을 검사하여 눈에 이상이 없는 동물을 사용하였다.

2.2.7. 개체식별

사육 상자에 개체식별 정보를 부착하여 식별하였다.

2.2.8. 동물윤리

~ ~ ~ ~ ~
~ ~ ~ ~ ~
~ ~ ~ ~ ~
~ ~ ~ ~ ~

본 시험은 동물보호법(법률 제20581호, 2024.12.20)에 따라 ㈜한국독성시험연구소 동물실험윤리위원회 규정을 준수하여 실시하였다(동물실험계획 승인서 승인번호: AGRN25069).

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 투여

2.4.1. 시험군의 구성

[표 2. 시험군]

군	동물수	좌우구분	처리
비세척군	3	좌 안	시험물질
		우 안	무 처 리

2.4.2. 시험물질 조제

시험물질이 액상으로 조제하지 않고 처리부위에 직접 처리하였다.

2.4.3. 투여량 설정

투여량은 투여 개체별로 0.1 mL를 설정하였다.

2.4.4. 투여방법

초기시험은 1마리의 동물을 사용하였으며 시험동물은 시험개시 전 24시간 이내에 육안으로 양쪽 눈을 검사하여 눈에 이상이 없는 동물로서 약제처리는 좌안의 하안검을 가볍게 잡아당겨 결막낭 내에 시험물질 0.1 mL를 한 번에 넣어 처리하고 시험물질의 손실을 막기 위해 양안검을 느슨하게 맞춰 잡고 약 1초간 유지하였다. 무처리한 우안은 대조부위로 하여 처리부위와 증상관찰 비교 용도로 활용하였다. 초기시험에서 심한 눈 손상이 관찰되지 않아 이후 2마리의 동물을 사용하여 확인시험을 진행하였다.

3. 관찰 및 측정

3.1. 일반증상 및 치사 관찰

시험물질 투여 후, 1, 24, 48 및 72시간에 일반증상 관찰 및 치사동물의 유·무를 확인하였다.

3.2. 체중 측정

시험물질 처리직전과 처리 후 48, 72시간에 개체별 체중을 측정하였다.

3.3. 안반응의 평가

안반응의 평가는 [표 3. 안반응 평가표]에 따라 실시하였다. 시험물질 처리 후 1, 24, 48 및 72시간까지 각막흔탁, 홍채이상, 결막 발적, 부종 평점을 기록하였다.

3.4. 자극성의 평가

[표 3. 안반응 평가표]에 의해 개체별 자극정도를 평가하고 이 결과로 [표 4. 안점막 자극표]에 따라 자극성의 정도를 구분하였다.

[표 3. 안반응 평가표]

1) 각막	
흔탁 : 안구의 농후한 정도(가장 농후한 지점을 관찰함)	평점
◦ 화농이나 흔탁이 없음	0
◦ 흔탁이 분산 혹은 밀집되어 있으나(정상적인 투명성이 약간 둔화된 것과는 다름) 홍채의 말단이 명확히 관찰됨	1
◦ 반투명한 부분이 쉽게 관찰되면서 홍채의 말단이 약간 불명확함.....	2
◦ 진주색깔을 나타내면서 홍채의 말단이 관찰되지 않음, 동공의 크기가 가파스로 관측됨	3
◦ 각막이 불투명하고 흔탁 때문에 홍채가 관찰 안됨	4
2) 홍채	
반응치	
◦ 정상	0
◦ 현저한 주름의 형성, 충혈, 종창 혹은 각막주위에 중등도의 충혈을 보이거나 홍채가 빛에 대해 반응함	1
◦ 홍채가 빛에 대해 반응이 없거나 출혈 또는 대부분 파괴된 상태)	2
3) 결막	
발적(안검결막, 안구결막에 한함, 홍채 제외)	
◦ 혈관 정상	0
◦ 일부 혈관 충혈	1

◦ 얇은 심홍색을 띄거나 각각의 혈관이 쉽게 관찰 안됨	2
◦ 짙은 선홍색	3
결막부종	
◦ 부풀지 않음	0
◦ 정상보다 약간 종창(순막 포함)	1
◦ 안검의 부분적 외전을 동반한 현저한 종창	2
◦ 눈이 반쯤 잠길 정도의 안검의 종창	3
◦ 눈이 반 이상 잠길 정도의 안검의 종창	4

[표 4. 안점막 자극표]

구분	분류기준
강도	다음 어느 하나에 해당하는 물질 ① 피부 강도 자극성인 부식성 물질 ② pH 2 이하 또는 pH 11.5 이상인 물질 ③ 최소한 1마리의 동물에서 각막, 홍채 또는 결막에 대한 영향이 회복되지 않을 것이라 예상되거나 일반적으로 관찰기간 21일 내에 완전히 회복되지 않는 경우 ④ 시험동물 3마리 중 최소한 2마리에서, 시험물질 주입 후 24, 48 및 72시간에서의 평균 점수로서 계산된 수치가 아래 기준에 어느 하나라도 해당하는 경우: ○ 각막 불투명도 ≥ 3 ○ 홍채 > 1.5
중도	다음 어느 하나에 해당하는 물질 ① 피부 중도 자극성 물질 ② 동물 시험결과 3마리 중 최소한 2마리에서, 아래 기준에 어느 하나라도 해당되고, 관찰기간 21일 이내에 완전히 회복되는 경우 ○ 각막 불투명도 점수 ≥ 1 ○ 홍채 점수 ≥ 1 ○ 결막 발적 점수 ≥ 2 ○ 결막 부종 점수 ≥ 2
경도	중도 조건에 해당하는 자극성이 7 일 이내에 완전히 회복되는 경우
없음	경도 이상에 해당하지 않는 경우

5. 참고문헌

- 5.1. 농촌진흥청 고시 제2025-13호(2025.07.04) “농약 및 원제의 등록기준”, [별표 12] 인축독성시험 기준과 방법, 12-1-5. 안점막자극성시험
- 5.2. 국립농산물품질관리원 고시 제2024-16호(2024.12.03) “유기농업자재 공시 업무 규정”.
- 5.3. OECD Guideline for the Testing of Chemicals, No. 405 「Acute Eye Irritation/Corrosion」 (Corrected : Jun 26, 2020)
- 5.4. 농림축산식품부 법률 제20581호(2024.12.20.) “동물보호법”

6. Tables

Table 1. Mortality and clinical signs

Group	Number of animals	Days after application				Mortality
		0 (1hr)	1	2	3	
No eye washed	1	NOR ^a	NOR	NOR	NOR	0/3 ^b
	2	NOR	NOR	NOR	NOR	
	3	NOR	NOR	NOR	NOR	

a : Normal

b : Number of dead animals/Number of tested animals

Table 2. Body weight changes

Group	Number of animals	Days after application (g)			
		0	2	3	Gain
No eye washed	1	2025.8	2049.5	2105.2	79.4
	2	2037.1	2057.3	2064.8	27.7
	3	2217.3	2263.2	2285.1	67.8
	Mean	2093.4	2123.3	2151.7	58.3
	S.D. ^a	107.4	121.2	117.3	-

a : Standard Deviation

Table 3. No eyes washed evaluation of eye irritation(Non-treatment)

Time	Number of animals	Corneal opacity : degree of density	Iris	Conjunctiva	
				Redness	Edema
1 hr	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
24 hr	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
48 hr	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
72 hr	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0

Table 4. No eyes washed evaluation of eye irritation(Treatment)

Time	Number of animals	Corneal opacity : degree of density	Iris	Conjunctiva	
				Redness	Edema
1 hr	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
24 hr	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
48 hr	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
72 hr	1	0	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0