

최종보고서

랫드를 이용한 토탈씩 플러스의 급성경구독성시험

OTO-25014

(주)한국독성시험연구소 **KTTR**

KTTR

제 출 문

시험물질: 토탈씩 플러스

시험제목: 랫드를 이용한 토탈씩 플러스의 급성경구독성시험

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

㈜한국독성시험연구소

시험책임자 조 인 선

서명 

KTTR

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. 시험재료 및 준비	8
2.1. 시험물질	8
2.2. 시험계	8
2.3. 사육환경 및 관리	9
2.4. 투여약량수준 설정 및 약제조제	9
2.5. 시험물질의 투여	10
3. 관찰 및 측정	11
3.1. 일반중독증상 미 치사동물 관찰	11
3.2. 체중측정	11
3.3. 부검	11
3.4. 반수치사약량(LD ₅₀) 산출	11
[표 2. Classification systems of Acute toxicity for pesticides in Korea and Globally Harmonized classification System]	11
4. 시험결과	12
4.1. 일반중독증상 및 치사동물	12
4.2. 체중변화	12
4.3. 부검소견	12
4.4. 반수치사약량(LD ₅₀)	12

5. 참고문헌	13
6. Tables	14
Table 1. Mortality and clinical signs	14
Table 2. Mean body weights	14
Table 3. Mortality of rats	15
Table 4. Clinical signs of rats	16
Table 5. Body weights	17
Table 6. Macroscopical findings necropsy	18

요 약

토탈싹 플러스를 암컷 SD계 랫드에 급성경구 투여 시의 독성을 평가하기 위하여 투여량을 2,000 mg/kg B.W.로 하여 단회 경구 투여한 후 14일 동안 치사, 일반증상, 체중변화 및 부검소견을 조사·관찰하였다.

본 시험은 농촌진흥청 고시 제2025-13호 “농약 및 원제의 등록기준”, [별표 12] 인축 독성 시험기준과 방법, 12-1-20. 급성경구독성시험: 급성독성등급법에 따라 수행하였다.

- 1단계 투여약량 2,000 mg/kg B.W.에서 14일 동안 치사개체가 관찰되지 않았다.
- 2단계 투여약량 2,000 mg/kg B.W.에서도 14일 동안 치사개체가 관찰되지 않았다.
- 생존한 모든 개체에서 일반중독증상은 관찰되지 않았다.
- 체중 측정 결과, 모든 시험동물은 시간이 경과함에 따라 체중이 증가하였다.
- 부검결과 이상 소견은 관찰되지 않았다.

이상 토탈싹 플러스의 SD계 랫드를 이용한 급성경구독성시험 결과, LD₅₀값은 2,000 mg/kg B.W. 초과이며 농약관리법 시행규칙 [별표 3의5] 농약 등의 독성 및 잔류성정도 별 구분에 의거 IV급(저독성)으로 구분되었다.

1. 시험실시의 개요

1.1. 시험제목

랫드를 이용한 토탈씩 플러스의 급성경구독성시험

1.2. 시험물질

토탈씩 플러스

1.3. 시험목적

랫드를 이용한 토탈씩 플러스의 급성경구독성시험을 통하여 유기농업자재 공시에 관한 기초자료로 활용코자 한다.

1.4. 시험방법

“농약 및 원제의 등록기준” [별표 12] 인축독성시험 기준과 방법 (농촌진흥청 고시 제2025-13호) 중 12-1-20. 급성경구독성시험(급성독성등급법)에 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 설치류 실험실

1.8. 시험책임자

성명

조인선

소속

(주)한국독성시험연구소 독성연구팀

1.9. 시험참여자

시험물질의 조제/노출: 김지완, 김동현

관찰/측정/평가: 조인선, 김동현, 김지완

사육관리담당자: 김동현

~ ~ ~ ~ ~

1.10. 시험일정

동물입수일	2025년 08월 19일 (1단계, 2단계)
검역순화기간	2025년 08월 19일 ~ 2025년 08월 25일 (1단계) 2025년 08월 19일 ~ 2025년 08월 27일 (2단계)
시험물질 투여일	2025년 08월 26일 (1단계) 2025년 08월 28일 (2단계)
일반증상관찰기간	2025년 08월 26일 ~ 2025년 09월 09일 (1단계) 2025년 08월 28일 ~ 2025년 09월 11일 (2단계)
시험종료 / 부검일	2025년 09월 09일 (1단계) 2025년 09월 11일 (2단계)
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	OTO-25014
시험기초자료	자료보관실
최종보고서	자료보관실
자료하드디스크	자료보관실
자료보관기간	유기농업자재 공시 후 3년
자료관리담당자	조인선

개체식별은 유성매직을 사용하여 각 개체의 미부에 표시하고, 사육상자에 개체식별 라벨을 부착하였다.

2.2.8. 동물윤리

본 시험은 동물보호법(법률 제20581호, 2024.12.20)에 따라 ㈜한국독성시험연구소 동물실험윤리위원회 규정을 준수하여 실시하였다(동물실험계획 승인서 승인번호: AGRN25066).

2.3. 사육환경 및 관리

2.3.1. 사육환경

본 시험의 사육환경은 온도 $22\pm 3^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $50\pm 20\%$, 환기시설(공조기), 조명 시간 12시간(오전8시~오후8시) 및 조도 150~300 Lux의 실험실조건에서 사료와 음용수를 급여하여 순화 및 시험기간 동안 격리 사육하였다.

2.3.2. 사육상자

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

2.3.3. 사료 및 음용수

사료는 설치류 펠릿사료[Cargill Agri Purina Korea Inc.]를 자유 급식시켰으며 음용수는 정수필터 통과 및 자외선 살균한 수도수를 자유 섭취시켰다(경기도 보건환경연구원 정수물 수질검사 분석결과 기준에 적합(2025.05.29.~ 2025.06.02)).

2.4. 투여약량수준 설정 및 약제조제

2.4.1. 투여약량수준설정

본 시험물질은 주성분이 자몽종자추출물과 낭독추출물로 구성된 천연식물 추출물이라 문헌정보에 따라 독성이 낮을 것이라 판단하여 투여약량 2,000 mg/kg B.W.로 1단계 시험을 수행한 결과, 2일 동안 치사 및 일반중독증상이 관찰되지 않아 동일한 투여약량으로 2단계 시험을 실시하였다.

2.4.2. 실험동물 수

실험동물 수는 각 단계별 암컷 3마리를 1군으로 하였다.

2.4.3. 용매대조군의 설정

종류수를 이용하여 시험물질을 조제하였기에 용매대조군은 따로 설정하지 않았다.

2.4.4. 용매의 선택과 시험용액 조제

- 1단계 / 2단계 시험(2,000 mg/kg B.W.)

시험용액은 1단계 및 2단계 시험에서 투여직전 각각 동일하게 조제하여 시험에 사용하였고, 시험용액의 용매는 종류수를 사용하였으며 액상인 시험물질은 저울로 2.0 g을 정확히 칭량하여 10 mL의 volumetric flask에 넣고 종류수를 표선까지 정용한 후 vortex로 충분히 현탁하여 시험용액(test solution)으로 사용하였다.

2.4.5. 투여용량 (volume)설정

투여용량은 10 mL/kg B.W.로 설정하였다.

2.5. 시험물질의 투여

2.5.1. 투여횟수 및 투여액량

본 시험은 시험물질을 조제하여 투여액량 10 mL/kg B.W.로 1회 경구 투여하였으며, 개체별 투여액량은 처리당일 측정된 체중을 기준으로 산출하였다.

2.5.2. 투여방법

시험물질 투여 전 하룻밤 전부터 실험동물을 절식시키고 음용수는 자유섭취 시켰으며 투여당일 조제한 시험물질을 개체별 투여액량에 따라 경구 투여용 존데를 이용하여 위내에 1회 강제 투여하였다. 투여 후 일반증상을 관찰하고 4시간 후 사료를 공급하였다.

3. 관찰 및 측정

3.1. 일반중독증상 및 치사동물 관찰

처리 당일은 처리 후 30분, 1시간에서 4시간까지 매 시간마다 일반중독증상 및 치사 수를 관찰하였고, 익일부터는 매일 1회씩, 투여 후 14일째까지 관찰 및 조사하였다.

3.2. 체중 측정

시험에 사용되는 모든 동물에 대하여 시험물질 투여 직전에 체중을 측정하였고 생존한 동물에 한하여 7일, 실험종료일인 14일째 개체별 체중을 측정하였다.

3.3. 부검

시험물질 투여 후 치사된 개체 및 실험종료일에 생존한 모든 동물에 대하여 CO₂ 가스로 마취시켜 개복 후 후대정맥/복대정맥을 방혈하여 안락사 시키고 부검하였으며 부검 시 육안소견을 기록하였다.

3.4. 반수치사약량(LD₅₀) 산출

본 시험은 농촌진흥청 고시 제2025-13호 “농약 및 원제의 등록기준”, [별표 12] 인축 독성 시험기준과 방법, 12-1-20. 급성경구독성시험: 급성독성등급법에 따라 실시하였으며 실험종료 후 농약관리법(표2)에 따라 반수치사약량(LD₅₀)을 산출하였다.

[표 2. Classification systems of Acute toxicity for pesticides in Korea and Globally Harmonized classification System]

Classification criteria						
Class ^a	LD ₅₀ (mg/kg B.W.)				GHS ^b	LD ₅₀
	Acute Oral		Acute Dermal			(mg/kg B.W.)
	Solids	Liquids	Solids	Liquids		Acute Oral
I (Extremely)	< 5	< 20	< 10	<40	I	≤ 5
II (Highly)	≥5, <50	≥20, <200	≥10, <100	≥40, <400	II	≤ 50
III (Moderately)	≥50, <500	≥200, <2,000	≥100, <1,000	≥400, <4,000	III	≤ 300
IV (Slightly)	≥500	≥2,000	≥1,000	≥4,000	IV	≤2,000
					V	≤5,000

a : Classification systems of Acute toxicity for pesticides in Korea

b : Globally Harmonized Classification System

4. 시험결과

4.1. 일반중독증상 및 치사동물 수(Table 1., 3., 4.)

토탈씩 플러스는 1단계 및 2단계 시험 투여약량 2,000 mg/kg B.W.에서 투여 후 일반중독증상을 보이거나 치사한 개체가 관찰되지 않았다.

4.2. 체중변화(Table 2., 5.)

시험물질투여일과 비교하여 1단계 및 2단계 시험군의 모든 시험동물은 시간이 경과함에 따라 체중이 증가하였다.

4.3. 부검소견(Table 6.)

실험종료 시까지 생존한 모든 개체에 대하여 부검 시 주요장기에 대한 육안적 관찰을 실시한 결과 1단계, 2단계 시험 모든 개체에서 시험물질 투여와 관련된 이상소견이 관찰되지 않았다.

4.4. 반수치사약량(LD₅₀)

랫드를 이용한 토탈씩 플러스의 급성경구독성시험 결과, LD₅₀값은 2,000 mg/kg B.W. 초과이며 농약관리법 시행규칙 [별표 3의5] 농약 등의 독성 및 잔류성정도별 구분에 의거 IV급(저독성)으로 구분되었다.

5. 참고문헌

- 5.1. 농촌진흥청 고시 제2025-13호 「농약 및 원제의 등록기준」 [별표 12]
인축독성시험 기준과 방법, 12-1-20. 급성경구독성시험(급성독성등급법)
- 5.2. 국립농산물품질관리원 고시 제2024-16호 「유기농업자재 공시 업무 규정」
(2024.12.03)
- 5.3. OECD Guideline for the Testing of Chemicals, No. 423 「Acute Oral Toxicity-
Acute Toxic Class Method」 (2001.12.17.)
- 5.4. 농림축산식품부 법률 제20581호(2024.12.20.) “동물보호법”

6. Tables

Table 1. Mortality and clinical signs

Group	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Number of animals	Clinical signs	Mortality	LD ₅₀
1	2,000	Female	3	No abnormality detected	0/3 ^a	>2,000 ~ ≤5,000 mg/kg B.W.
2	2,000	Female	3	No abnormality detected	0/3	

a : Number of dead animals/Number of tested animals

Table 2. Mean body weights

Group	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Number of animals	Days after administration (g)		
				0	7	14
1	2,000	Female	3	190.1 ± 7.9 ^a	219.5 ± 5.7	240.4 ± 10.5
2	2,000	Female	3	192.1 ± 8.3	226.2 ± 7.2	243.1 ± 5.2

a : Mean ± standard deviation

[illegible][illegible]

a : Number of dead animals

Table 4. Clinical signs of rats

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	2,000	Female	1	NAD ^a	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			2	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			3	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
2	2,000	Female	1	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			2	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			3	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD

Group	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Number of animals	Days after administration									
				6	7	8	9	10	11	12	13	14	
1	2,000	Female	1	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			2	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			3	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
2	2,000	Female	1	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			2	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			3	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD

a : No abnormality detected

Table 5. Body weights

Group	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Number of animals	Days after administration (g)			
				0	7	14	Gain
1	2,000	Female	1	197.5	220.7	248.9	51.4
			2	181.8	213.3	228.7	46.9
			3	191.1	224.4	243.6	52.5
Mean				190.1	219.5	240.4	50.3
S.D. ^a				7.9	5.7	10.5	-
2	2,000	Female	1	197.3	232.7	248.5	51.2
			2	182.6	218.5	238.1	55.5
			3	196.5	227.4	242.7	46.2
Mean				192.1	226.2	243.1	51.0
S.D.				8.3	7.2	5.2	-

a : Standard Deviation

Table 6. Macroscopical findings necropsy

- Group 1 (2,000 mg/kg B.W.)

Animal 1	Planned necropsy (Final necropsy)	09-Sep-2025
----------	-----------------------------------	-------------

No Findings Noted

Animal 2	Planned necropsy (Final necropsy)	09-Sep-2025
----------	-----------------------------------	-------------

No Findings Noted

Animal 3	Planned necropsy (Final necropsy)	09-Sep-2025
----------	-----------------------------------	-------------

No Findings Noted

- Group 2 (2,000 mg/kg B.W.)

Animal 1	Planned necropsy (Final necropsy)	11-Sep-2025
----------	-----------------------------------	-------------

No Findings Noted

Animal 2	Planned necropsy (Final necropsy)	11-Sep-2025
----------	-----------------------------------	-------------

No Findings Noted

Animal 3	Planned necropsy (Final necropsy)	11-Sep-2025
----------	-----------------------------------	-------------

No Findings Noted