

최종보고서

랫드를 이용한 토탈씩 플러스의 급성경피독성시험

OTP-25014

(주)한국독성시험연구소 **KTTR**

KTTR

제 출 문

시험물질: 토탈씩 플러스

시험제목: 랫드를 이용한 토탈씩 플러스의 급성경피독성시험

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 조인선



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
[표 1. 시험동물의 주령 및 체중범위]	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 및 치사동물 관찰	11
3.2. 체중측정	11
3.3. 부검	11
3.4. 반수치사약량(LD ₅₀) 산출	11
3.5. 피부반응의 평가	11
[표 2. 피부반응 평가표]	11
4. 시험결과	12
4.1. 일반중독증상 및 치사동물	12
4.2. 체중변화	12
4.3. 피부반응	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. Evaluation of skin irritation	18
Table 7. Calculation of P.I.I. value	19

요 약

토탈씩 플러스에 대한 급성경피독성을 랫드를 이용하여 4,000 mg/kg B.W.의 약량을 단회 경피 투여한 후 14일 동안 치사 수, 일반중독증상, 체중변화를 관찰·조사한 결과는 다음과 같다.

- 투여약량 4,000 mg/kg B.W.에서 치사개체가 관찰되지 않았다.
- 모든 개체에서 시험물질 처리 후 일반중독증상, 치사 개체 및 피부 자극이 없었다.
- 체중변화는 약제투여 후 경과일수에 따라 증가추세를 보였다.
- 시험물질 처리 후 72시간까지의 피부자극지수(P.I.I.)는 “0.0”으로 산출되었다.

따라서, 랫드를 이용한 토탈씩 플러스의 급성경피독성시험 시험 결과, LD₅₀값은 4,000 mg/kg B.W. 초과이며 농약관리법에 의거 독성을 구분하면 IV급(저독성)에 해당되었다.

1.10. 시험일정

동물입수일	2025년 08월 19일
검역순화기간	2025년 08월 19일 ~ 2025년 08월 25일
시험동물 제모일	2025년 08월 25일
시험물질 투여일	2025년 08월 26일
일반증상관찰기간	2025년 08월 26일 ~ 2025년 09월 09일
실험종료일	2025년 09월 09일
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 OTP-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. 시험종

- Rat Female, Sprague-Dawley(SD), SPF

2.2.2. 공급원

- 명칭 ㈜샘타코바이오코리아
 - 소재지 경기도 오산시 서량로 105
 - 연락처 031-372-3636

2.2.3. 시험계의 선택사유

농촌진흥청 고시 제2025-13호 인축독성시험 기준과 방법에 시험동물로 랫드를 추천하고 있으며, 본 계통에 대한 기초자료가 충분히 축적되어 있으므로 시험결과 해석 및 평가가 용이하여 선택하였다.

2.2.4. 주령 및 체중범위

[표 1. 시험동물의 주령 및 체중범위]

시험약제 투여 시	Female, 4,000 mg/kg B.W.	Male, 4,000 mg/kg B.W.
주령(주)	8	8
체중(g)	184.8 ~ 192.5	250.2 ~ 271.8

2.2.5. 검역 및 순화

동물 입수 후 7일 동안 설치류 실험실2의 환경조건 하에서 순화시키면서 일반 건강 상태를 관찰하여 건강한 개체를 선별, 본 시험에 사용하였다. 순화기간 동안 실험동물의 일반증상을 관찰한 결과, 치사 및 이상증상을 보이는 개체는 없었으며 건강한 동물을 시험에 사용하였다.

2.2.6. 군분리

순화기간을 거친 후 건강한 동물 중에서 무작위법을 이용하여 시험군을 군분리하였다.



2.2.7. 개체 및 사육상자 식별

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 (주)한국독성시험연구소 동물실험윤리위원회 규정을 준수하여 실시하였다(동물실험계획 승인서 승인번호: AGRN25067).

2.3. 사육환경 및 관리

2.3.1. 사육환경

본 시험의 사육환경은 온도 $22\pm3^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $50\pm20\%$, 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($260\times420\times180$ mm)에 깔짚을 넣은 후 암컷 5마리, 수컷 5마리를 각각 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. 본 시험물질은 주성분이 자몽종자추출물과 낭독추출물로 구성된 천연식물추출물이라 문헌정보에 따라 독성이 낮을 것이라 판단하여 투여약량 4,000 mg/kg B.W.로 설정하여 시험을 실시하였다.

2.4.2. 실험동물 수

시험 동물 수는 암수 각각 5마리씩 10마리를 1군으로 하였다.

2.4.3. 용매대조군의 설정

증류수를 이용하여 시험물질을 조제하였기에 용매대조군은 따로 설정하지 않았다.

2.4.4. 용매의 선택과 시험용액 조제

시험용액의 용매는 증류수를 사용하였으며 액상인 시험물질은 저울로 20.0 g을 정확히 칭량해 50 mL의 volumetric flask에 넣고 증류수를 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. 약제처리경로 및 처리방법

시험동물은 시험물질처리 하루 전에 등부위에 제모기를 이용하여 체표의 10% 이상(5×6 cm 이상) 크기 넓이로 제모하고, 4×4 cm 크기 면적의 거즈에 시험용액을 균일하게 묻힌 다음 제모 된 부위에 Coban (self-adherentwrap, 3M)으로 고정/유지 시켰다.

2.5.2. 시험물질의 제거

등 부위에 도포시킨 시험물질은 24시간 후 제거하고 피부에 묻은 잔여 물질은 증류수로 잘 닦고 의료용 탈지면으로 물기를 흡수시킨 다음 케이지에 넣어두었다.

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 투여 후 7일, 실험종료일인 14일째 개체별 체중을 측정하였다.

3.3. 부검

모든 시험동물에게서 일반증상 및 치사개체가 발견되지 않아 부검을 실시하지 않았다.

3.4. 반수치사약량(LD₅₀) 산출

농촌진흥청 고시 제2025-13호 농약 및 원제의 등록기준에 의해 시험을 실시한 결과, 시험고시의 최고용량에서 모든 시험동물이 생존하여 시험종료 후 통계처리는 생략하였다. 농약관리법 시행규칙 [별표 3의5] 농약 등의 독성 및 잔류성정도별 구분에 준하여 독성을 구분하였다.

3.5. 피부반응의 평가

피부반응의 평가는 [표 2. 피부반응 평가표]에 준하여 실시하였다.

[표 2. 피부반응 평가표]

홍반 및 가피 형성		부종 형성	
반응	점수	반응	점수
홍반이 전혀 없음	0	부종이 전혀 없음	0
아주 가벼운 홍반 (육안으로 거의 식별할 정도)	1	아주 가벼운 부종 (육안으로 거의 식별할 정도)	1
명확한 홍반	2	가벼운 부종(뚜렷하게 부어올라서 노출부위가 구별될 정도)	2
중간정도부터 심한 홍반	3	중간정도의 부종(약 1 mm정도 부어올랐을 경우)	3
심한 홍반과 홍반을 평가할 수 없을 정도의 가피 형성	4	심한 부종(1 mm 이상 부어오르고 노출부위 밖까지 확장된 경우)	4
최고점: 4		최고점: 4	

4. 시험결과

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

토탈씩 플러스를 투여약량 4,000 mg/kg B.W.로 경피 노출한 결과 일반중독증상 및 치사개체가 관찰되지 않았다.

4.2. 체중변화(Table 2., 5.)

모든 시험동물의 체중은 약제투여 후 경과 일에 따라 증가추세를 보였다.

4.3. 피부반응(Table 6., 7.)

시험동물에 시험물질 노출 종료 후 24, 48 및 72시간에 [표 2. 피부반응 평가표]를 이용하여 피부반응을 관찰한 결과, 어떠한 피부자극증상도 관찰되지 않았다. 시험물질 처리 후 72시간까지의 피부자극지수(P.I.I.)는 “0.0”으로 산출되었다.

4.4. 반수치사약량(LD₅₀)

랫드를 이용한 토탈씩 플러스의 급성경피독성시험 시험 결과, LD₅₀값은 4,000 mg/kg B.W. 초과이며 농약관리법에 의거 독성을 구분하면 IV급(저독성)에 해당되었다.

[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, 1,000 미만	400 이상, 4,000 미만
IV 급 (저독성)	1,000 이상	4,000 이상

※ 고체 및 액체의 분류는 농약 등의 물리적 상태에 의함.

5. 참고문헌

- 5.1. 농촌진흥청 고시 제2025-13호 「농약 및 원제의 등록기준」 [별표 12]
인축독성시험 기준과 방법, 12-1-2. 급성경피독성시험
- 5.2. 국립농산물품질관리원 고시 제2024-16호 「유기농업자재 공시 업무 규정」
(2024.12.03)
- 5.3. OECD Guideline for the Testing of Chemicals, No. 402 「Acute Dermal
Toxicity: Fixed Dose Procedure」 (2017.10.09)
- 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 (dead / total)	LD ₅₀
1	4,000	Female	5	No abnormality detected	0% (0 / 5 ^a)	> 4,000 mg/kg B.W.
	4,000	Male	5	No abnormality detected	0% (0 / 5)	

a : Number of Death 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	4,000	Female	5	188.8 ± 3.5 ^a	217.2 ± 6.1	238.9 ± 6.8
	4,000	Male	5	260.9 ± 9.4	297.5 ± 6.8	342.0 ± 7.9

a : Mean ± standard deviation

Table 3. Mortality 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	4,000	Female	5	0 ^a	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4,000	Male	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Group	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Number of animals	Days after administration								
				6	7	8	9	10	11	12	13	14
1	4,000	Female	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4,000	Male	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0

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	4,000	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
			4	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			5	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
	4,000	Male	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
			4	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			5	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	4,000	Female	1	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			2	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			3	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			4	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			5	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
	4,000	Male	1	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			2	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			3	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			4	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			5	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	4,000	Female	1	184.8	208.2	227.2	42.4
			2	189.5	221.5	241.8	52.3
			3	185.4	213.6	244.1	58.7
			4	192.5	220.2	238.9	46.4
			5	191.6	222.5	242.4	50.8
Mean				188.8	217.2	238.9	50.1
S.D. ^a				3.5	6.1	6.8	-
1	4,000	Male	1	254.2	295.1	332.2	78.0
			2	258.7	297.3	338.1	79.4
			3	269.4	306.6	349.8	80.4
			4	271.8	300.5	350.4	78.6
			5	250.2	288.2	339.6	89.4
Mean				260.9	297.5	342.0	81.1
S.D.				9.4	6.8	7.9	-

a : Standard deviation

Table 6. Evaluation of skin irritation

Group	Sex	Phases ^a	Number of animals	Sites	Time after treatment		
					24hr	48hr	72hr
1	♀	Erythema & Eschar	1	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
			2	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
			3	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
			4	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
			5	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
		Edema	1	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
			2	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
			3	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
			4	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
			5	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
1	♂	Erythema & Eschar	1	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
			2	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
			3	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
			4	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
			5	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
		Edema	1	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
			2	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
			3	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
			4	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0
			5	Control sites	0	0	0
				Test sites	0	0	0

a : Time after topical treatment

Table 7. Calculation of P.I.I. value

Sites		Control sites				Test sites			
Change		Erythema & Eschar		Edema		Erythema & Eschar		Edema	
Phases ^a		24hr	72hr	24hr	72hr	24hr	72hr	24hr	72hr
♀	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	0	0
Total		0	0	0	0	0	0	0	0
Mean		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Sum ^b		0.0				0.0			
P.I.I. ^c		0.0				0.0			

Sites		Control sites				Test sites			
Change		Erythema & Eschar		Edema		Erythema & Eschar		Edema	
Phases ^a		24hr	72hr	24hr	72hr	24hr	72hr	24hr	72hr
♂	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0	0	0	0
Total		0	0	0	0	0	0	0	0
Mean		0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Sum ^b		0.0				0.0			
P.I.I. ^c		0.0				0.0			

a : Time after topical treatment

b : Sum of means at 24 and 72hr

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

