

발간등록번호

11-1543000-002295-01

과수 월동기 병해충방제용 유기농업자재 개발 최종보고서

2018.04.20.

주관연구기관 / (주)한국생물안전성연구소
참여기관 / 팜프랜드

농림축산식품부
(전문기관) 농림식품기술기획평가원

<제출문>

제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

본 보고서를 “과수 월동기 병해충방제용 유기농업자재 개발”(개발기간 : 2017. 04. 21 ~ 2018. 04. 20)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2018. 04. 20.

주관연구기관명 : (주)한국생물안전성연구소 (대표자) 이 해 근
참여기관명 : 팜프랜드 (대표자) 문 선 주



주관연구책임자 : 강성영

참여기관책임자 : 문선주

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

<보고서 요약서>

보고서 요약서

| | | | | | |
|--------------------------------------|---------------|-------------------------|--------------------------------|---------------|---|
| 과제고유번호 | 11709-01 | 해 당 단 계 연 구 기 간 | 2017.04.21. ~2018.04.20 | 단 계 구 분 | 개발 |
| 연구사업명 | 단 위 사 업 | 농식품기술개발사업 | | | |
| | 사 업 명 | 창업벤처지원 R&D 바우처 사업 | | | |
| 연구과제명 | 대 과 제 명 | (해당 없음) | | | |
| | 세부 과제명 | 과수 월동기 병해충방제용 유기농업자재 개발 | | | |
| 연구책임자 | 강성영 | 해당단계 참여연구원 수 | 총: 11 명 내부: 11 명 외부: 0 명 | 해당단계 연구개발비 | 정부: 45,000천원 민간: 15,000천원 계: 60,000천원 |
| | | 총 연구기간 참여연구원 수 | 총: 11 명 내부: 11 명 외부: 0 명 | 총 연구개발비 | 정부: 45,000천원 민간: 15,000천원 계: 60,000천원 |
| 연구기관명 및 소속부서명 | (주)한국생물안전성연구소 | | | 참여기업명 팜프랜드 | |
| 국제공동연구 | 상대국명: | | | 상대국 연구기관명: | |
| 위탁연구 | 연구기관명: | | | 연구책임자: | |
| ※ 국내외의 기술개발 현황은 연구개발계획서에 기재한 내용으로 같음 | | | | | |
| 연구개발성과의 보안등급 및 사유 | | | | | |

9대 성과 등록·기탁번호

| 구분 | 논문 | 특허 | 보고서 원문 | 연구시설 ·장비 | 기술요약 정보 | 소프트 웨어 | 화합물 | 생명자원 | | 신품종 | |
|-------------|----|----|-----------|-------------|------------|-----------|-----|----------|----------|-----|----|
| | | | | | | | | 생명 정보 | 생물 자원 | 정보 | 실물 |
| 등록·기탁 번호 | | | | | | | | | | | |

국가과학기술종합정보시스템에 등록된 연구시설·장비 현황

| 구입기관 | 연구시설· 장비명 | 규격 (모델명) | 수량 | 구입연월일 | 구입가격 (천원) | 구입처 (전화) | 비고 (설치장소) | NTIS 등록번호 |
|------|--------------|-------------|----|-------|--------------|-------------|--------------|--------------|
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |

요약(연구개발성과를 중심으로 개조식으로 작성하되, 500자 이내로 작성합니다)

보고서 면수
73

<요약문>

| | | | | | |
|------------------------------------|---|--------------------------------|-------------|---------------------|--------------------------------|
| <p>연구의 목적 및 내용</p> | <p>1. 연구개발의 목표 과수의 월동기 병해충 방제에 사용되는 기계유와 석회유황합제의 문제점을 해결할 수 있는 두 약제의 혼합제제를 개발하여 유기농업자재로 공시하여 제품화하고 사업화하고자함</p> <p>2. 연구개발의 내용</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ 제제 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 원료 선정 - 유화제 및 보조제 선발 - 시제품 제조 ○ 시제품 이화학적 특성 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 유효성분 분석 - 유해성분 분석 ○ 시제품 안전성 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 인축독성 : 급성경구, 급성경피, 피부자극성, 안점막자극성 - 환경독성 : 어독성, 꿀벌독성 ○ 시제품 성능 시험 <ul style="list-style-type: none"> - 살충효과시험 : 응애류, 깍지벌레류 - 살균효과시험 : 더듬이병, 궤양병 - 약해시험 : 사과, 복숭아, 배, 감귤, 오미자 ○ 제품화 <ul style="list-style-type: none"> - 대량생산 공정 구축 - 유기농업자재 공시 등록: 병해충관리자재용 | | | | |
| <p>연구개발성과</p> | <ul style="list-style-type: none"> ○ 병해충관리용 유기농업자재 공시 1건 : 제품화 ○ 기술실시 1건 : 참여기업이 기술실시하여 사업화 | | | | |
| <p>연구개발성과의 활용계획 (기대효과)</p> | <ul style="list-style-type: none"> ○ 본 연구로 개발된 제품은 과수 월동기 병해충 방제제로 활용 ○ 본 연구로 개발된 제품은 기계유와 석회황합제 사용으로 인한 문제점을 해결할 수 있을 것으로 기대 ○ 본 연구로 개발된 제품은 친환경적으로 병해충을 방제하는 기술로 화학농약의 사용량을 줄여 환경을 보호하는 효과가 있을 것으로 기대 ○ 본 연구로 개발된 제품은 친환경 제품으로 농민의 건강보호에도 도움이 될 것으로 기대 | | | | |
| <p>국문핵심어 (5개 이내)</p> | 과수 | 병해충방제 | 기계유 | 석회황합제 | 유기농업자재 |
| <p>영문핵심어 (5개 이내)</p> | fruit tree | diseases & insect pest control | machine oil | lime sulfur mixture | eco-friendly organic materials |

※ 국문으로 작성(영문 핵심어 제외)

< 목 차 >

- 제 1 장 연구개발과제의 개요 6
 - 제 1 절 연구개발의 필요성 6
 - 1. 연구개발의 개요 6
 - 2. 연구개발 대상의 국내·외 현황 7
 - 3. 연구개발의 중요성 8
 - 제 2 절 연구개발의 범위 9
 - 1. 연구개발의 최종목표 9
 - 2. 개발 목표 및 내용 10
 - 3. 연구개발 성과 및 평가방법 10

- 제 2 장 연구수행 내용 및 결과 12
 - 제 1 절 연구개발의 추진전략·방법 및 추진체계 12
 - 1. 연구개발 추진전략 및 방법 12
 - 2. 연구개발 추진체계 13
 - 3. 추진일정 14
 - 제 2 절 연구개발 내용 및 결과 14
 - 1. 체제 연구 14
 - 2. 시제품의 이화학적 특성 연구 17
 - 3. 시제품 안전성 연구 22
 - 4. 시제품의 성능시험 40
 - 5. 제품화 63
 - 제 3 절 연구개발 성과 65
 - 1. 제품화 : 유기농업자재 공시 1건 65
 - 2. 홍보 전시 : 1건 68
 - 2. 사업화 계획 및 매출 실적 69

- 제 3 장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도 70
 - 제 1 절 목표 달성도 70
 - 제 2 절 관련분야의 기술발전예의 기여도 71
 - 1. 경제적 측면 71
 - 2. 기술적 측면 71

- 제 4 장 연구결과의 활용 계획 등 72
 - 붙임. 참고 문헌 73

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 연구개발의 개요

가. 과수 월동 병해충 종류

| 과 종 | 병 균 | 월동 형태 및 장소 | 해 충 | 월동 형태 및 장소 |
|-----|------------------------------|------------------------------------|---|---|
| 사과 | <u>갈반병</u> <u>탄저병</u> | 군사 / 피해 잎 포자 / 피해 가지 | <u>점박이응애</u> <u>사과응애</u> <u>사과굴나방</u> | 성충 / <u>거친껍질</u> 알 / 가지 기부, 눈 주위 번데기 / <u>피해잎</u> |
| 배 | <u>특성병</u> <u>적성병</u> | 군사 / <u>피해잎</u> , 인편 겨울흄씨 / 향나무 | <u>꼬마배나무이</u> 각지벌레 <u>배나무면충</u> | 성충 / <u>껍질밑</u> 알 / <u>껍질틈</u> 알 / 눈 주위 |
| 포도 | 탄저병 | 군사 / 과실꼭지, 덩굴 | <u>호랑하늘소</u> | 유충 / <u>피해덩굴</u> |
| 복숭아 | <u>잎오갈병</u> <u>세균성구멍병</u> | 포자 / 피해 잎, 눈표면 세균 / 피해가지, 잎 | 각지벌레 유리나방 | 알 / <u>껍질틈</u> 유충 / <u>가지속</u> |
| 감 | 탄저병 <u>등근무늬낙엽병</u> | 군사 / 피해 과실 군사 / 피해 잎 | 각지벌레 꼭지나방 | 알, 성충 / <u>거친껍질</u> <u>노숙유충</u> / <u>가지부위</u> |

나. 과수 월동 병해충의 방제 필요성

- 병해충 밀도가 낮아 예방효과가 높다.
- 초기 병해충 밀도를 감소시켜 생육기 방제 비용을 줄일 수 있다.

다. 과수 월동 병해충 방제 약제

- 과수 월동 병해충 방제약제로 기계유, 석회황합제, 석회보르도액 등 3개 약제를 사용하고 있다.



라. 과수 월동 병해충 방제 약제의 문제점

- 과수의 수세가 나빠진다.
- 방제약제를 혼용하여 사용할 수 없다.
- 방제 약제간 안전 살포 간격을 준수해야 한다.



따라서 본 기술개발은 과수 월동 병해충 방제약제의 문제점을 해결하고 대체 사용할 수 있는 과수 월동 병해충방제용 유기농업자재를 개발하고자 한다.

2. 연구개발 대상의 국내·외 현황

가. 국내 기술 수준 및 시장 현황

(1) 기술현황

- 과수 월동 병해충 방제약제로 기계유, 석회황합제, 석회보르도액 등 3종의 약제가 농약 또는 유기농업자재로 공시되어 제품으로 판매되고 있다.
- 기계유, 석회황합제, 석회보르도액은 이화학 특성상 혼합하여 제품화하기가 어려운 물질로 현재는 이들 물질을 혼합하여 제제화한 기술은 없다.
- 본 기술개발에서는 과수 병해충 방제약제 3종 중 2종을 혼합하여 제제화를 하고자 한다.

(2) 시장현황

- 기계유, 석회황합제, 석회보르도액은 과수를 재배하는 농가에서는 월동 병해충 방제를 위하여 연 2회 이상은 사용하고 있다.
- 기계유는 한국삼공, 경농, 팜한농, 인바이오 등 8개 농약회사에서 농약 및 유기농업자재로 제품을 생산, 판매 하고 있다.
- 석회황합제는 인바이오, 백광소재 등에서 농약 및 유기농업자재로 제품을 생산, 판매하고 있다.
- 석회보르도액은 유기농업자재를 생산하는 업체에서 생산, 판매하고 있으며 삼공에서는 일본에서 수입하여 판매하고 있다.

(3) 경쟁기관현황

- 농약회사에서 과수 월동 병해충방제제로 황과 살충제를 혼합한 제품을 농약으로 등록하여 판매하고 있으나 월동해충인 깍지벌레와 흰가루병 방제제로 등록되어 있다.
- 유기농업자재를 생산하는 제조업체에서 황과 석회를 혼합하여 과수 월동 병해충 방제제를 개발하여 유기농업자재로 공시하여 제품을 판매하고 있으나 살충효과가 떨어지고 병해관리용으로 주로 사용되고 있다.
- 본 기술개발에서는 월동해충인 깍지벌레, 응애와 월동병해인 오갈병, 창가병, 흰가루병을 방제하는데 사용할 수 있는 방제제를 개발하고자 하는 기술로 기존의 경쟁기관과 차별화 된 기술이라고 볼 수 있다.

(4) 지식재산권현황

- 월동 병해충 방제 약제관련 지적재산권은 석회황합제, 석회보르도액에 대한 제조방법에 관한 특허가 여러 건 출원, 등록되어 있다.

나. 국외 기술 수준 및 시장 현황

(1) 기술현황

- 과수 월동 병해충 방제약제 개발기술은 국내기술과 차이가 없으며 기계유, 석회황합제, 석회보르도액 등 3종의 약제가 농약으로 등록되어 제조, 판매되고 있다.
- 국외에서도 기계유, 석회황합제, 석회보르도액을 혼합하여 제품화한 사례가 없다.

(2) 시장현황

- 유럽에서는 기계유 대체제로 식물성오일 등을 개발하여 제품화하고 있다.
- 석회보르도액은 과거에는 유럽에서 병해방제제로 많이 사용하였으나 현재는 친환경농산물에 사용이 제한적이라 사용이 감소하고 있으며 인도에서 황산동을 이용한 제품을 많이 생산하고 있다.
- 석회유황합제는 중국의 몇 개 기업에서 제품을 생산하고 있다.

3. 연구개발의 중요성

- 과수 월동 병해충의 방제는 병해충 밀도가 낮아 예방효과가 높이고, 초기 병해충 밀도를 감소시켜 생육기 방제 비용을 줄일 수 있어 한해 수확량을 결정지을 수 있어 매우 중요한 약제임
- 본 기술개발은 과수 월동 병해충 방제제를 개발하고자 하는 것으로 기존의 기술은 병해충을 동시에 방제하기보다는 병해충방제에 효과가 있는 약제를 그 시기에 맞게 약제 살포간격을 조절하면서 사용해야하는 문제점을 개선하고자 함
- 과수 재배농가에서는 월동 병해충 방제제로 2회 이상 살포해야 하고 살포시기도 조절해야하는 불편함이 있었으나 본 기술개발로 한번에 과수 월동 병해충을 방제할 수

있는 기술임

- 과수 재배농가에서 수입은 증가하지 않지만 매년 경영비는 증가하는 어려운 상황에서 약제를 1회라도 줄일 수 있는 기술개발을 요구하고 있음
- 과수 재배농가에서 연 2회 이상 관행적으로 사용해오던 월동 병해충방제제의 사용횟수를 줄일수 있는 기술개발을 필요로 하고 있음
- 본 연구개발은 과수농가에서 요구하는 기술로서 개발 즉시 현장에 적용 가능한 기술이므로 중요하다고 보임.
- 하지만 연구 개발된 성과물을 제품화하기 위해서는 제품시험 및 인증을 받아야 한다. 본 연구개발의 최종 제품의 성과물은 유기농업자재 제품으로 공시하는 것인데 제품 공시를 위해서는 독성시험, 약효시험, 약해시험 및 분석비 등 많은 연구비가 소요된다.
- 본 연구개발을 신청한 팜프랜드는 연구개발 아이디어 및 선행연구 결과는 있으나 제품화에 필요한 연구개발비가 부족하여 개발이 미진한 상황으로 정부의 지원이 필요하다.

제 2 절 연구개발의 범위

1. 연구개발의 최종목표

| 구분 | 내용 |
|------|--|
| 최종목표 | 과수 월동 병해충방제에 사용되는 기계유와 석회유황합제의 문제점을 해결할 수 있는 두 약제의 혼합제제를 개발하고 유기농업자재로 공시하여 제품화 |
| 세부목표 | <ul style="list-style-type: none"> ○ 제제 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 원료 선정 - 유화제 및 보조제 선발 - 시제품 제조 ○ 시제품 이화학적 특성 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 유효성분 분석 : 황, 파라핀오일 - 유해성분 분석 : 잔류농약분석 ○ 시제품 안전성 연구 <ul style="list-style-type: none"> - 인축독성 : 급성경구, 급성경피, 피부자극성, 안점막자극성 - 환경독성 : 어독성, 꿀벌독성 ○ 시제품 성능 시험 <ul style="list-style-type: none"> - 살충효과시험 : 응애류, 깍지벌레류 - 살균효과시험 : 궤양병, 더덩이병 |

| 구분 | 내용 |
|----|---|
| | <ul style="list-style-type: none"> - 약해시험 : 사과, 복숭아, 배, 감귤, 오미자 ○ 제품화 - 유기농업자재 공시 : 병해충관리용자재 |

2. 개발 목표 및 내용

가. 개발 목표

(1) 주관연구기관(한국생물안전성연구소)

- 시제품 안전성연구
- 병해충 약효·약해 시험
- 이화학적분석

(2) 참여기관 (팜프랜드)

- 시제품 제조
- 생산 공정 확립
- 유기농업자재로 제품화

나. 개발 내용 및 범위

(1) 주관연구기관(한국생물안전성연구소)

- 안전성 연구 : 일반독성 4항목, 환경독성 2항목
- 병해충 약효·약해 연구 : 약효시험 병해 2항목, 충해 2항목, 약해시험 5작물
- 이화학 분석 ; 유효성분 2항목, 유해성분 잔류농약 360종 분석

(2) 참여기관 (팜프랜드)

- 시제품 제조 : 2종
- 생산 공정 확립 : 1회 500L 생산량

3. 연구개발 성과 및 평가방법

| 성과항목 | 성과목표 | 가중치 | 평가방법 |
|---------|--------------------------|-----|-------------|
| 시제품제작 | 유제 2종 | 20% | 농약제형기준 |
| 안전성평가 | 일반독성: 4항목 환경독성: 2항목 | 30% | 농약시험기준 및 방법 |
| 약효·약해시험 | 약효: 방제가 60%이상 약해: 5작물 | 30% | 농약시험기준 및 방법 |

제 2 장 연구수행 내용 및 결과

제 1 절 연구개발의 추진전략 · 방법 및 추진체계

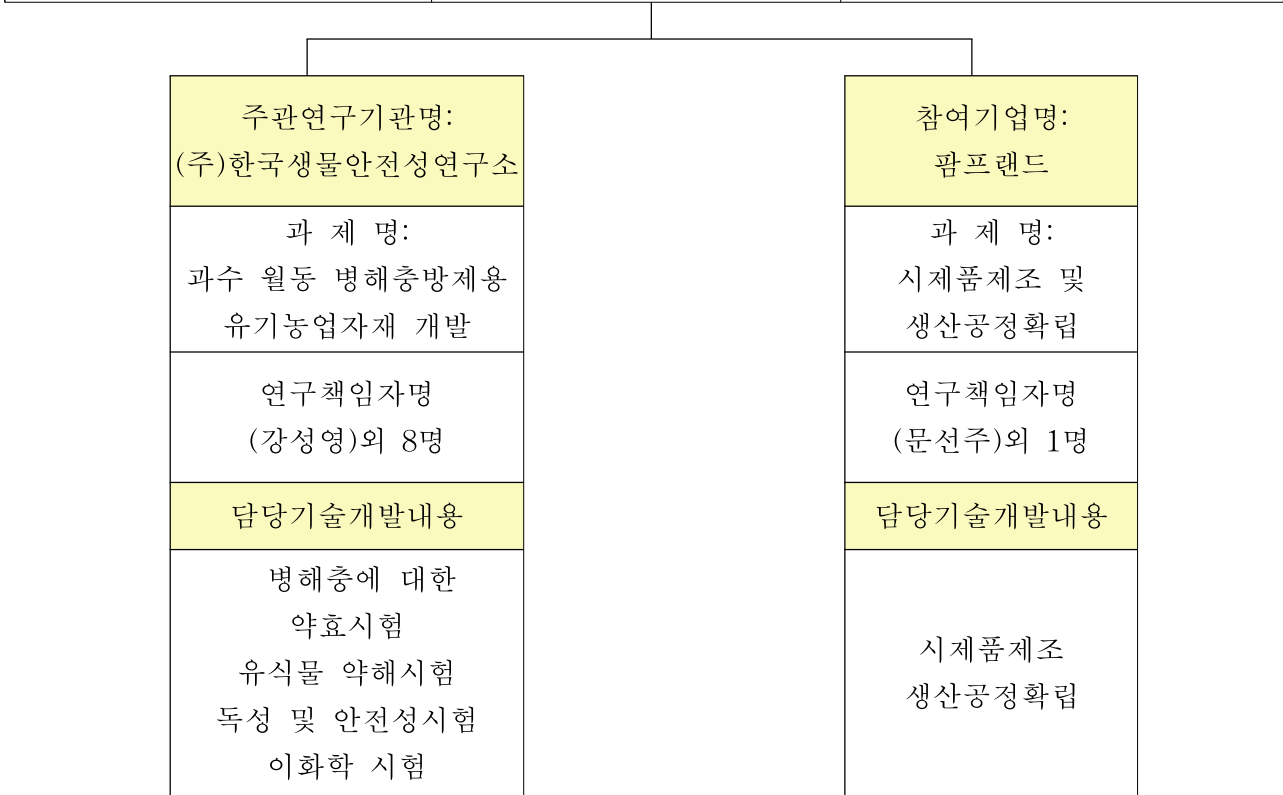
1. 연구개발 추진전략 및 방법

- 참여기업인 팜프랜드는 주관연구기관인 (주)한국생물안전성연구소가 연구를 진행할 수 있도록 시제품을 제조
- 주관연구기관인 (주)한국생물안전성연구소는 참여기업으로부터 받은 시제품으로 작물에 대한 병해충 약효시험, 약효시험, 독성 및 안전성시험 실시
- 이화학분석은 유기농업자재 연구기관으로 지정된 분석기관에 의뢰하여 실시
- 참여기업은 주관기관의 연구결과를 토대로 500L 생산공정 구축
- 주관연구기관은 약해시험, 약효시험, 안전성 및 이화학 시험성적서를 확보하여 유기농업자재 공시를 위한 자료를 만들어 유기농업자재 인증기관에 유기농업자재 공시 신청
- 최종적으로 병해충관리용 유기농업자재로 공시하여 제품화하고 참여기업에서는 생산공정을 구축하여 제품을 생산

2. 연구개발 추진체계

| 연구개발과제 | | 총 참여 연구원 |
|--------|------------------------|-------------------------|
| 과제명 | 과수 월동 병해충방제용 유기농업자재 개발 | 주관연구책임자 (강성영)외 총 10명 |

| 기관별 참여 현황 | | |
|-----------|-------|--------|
| 구분 | 연구기관수 | 참여연구원수 |
| 대기업 | | |
| 중견기업 | | |
| 중소기업 | 2 | 11 |
| 대학 | | |
| 국공립(연) | | |
| 출연(연) | | |
| 기타 | | |



3. 추진 일정

| 일련 번호 | 연구내용 | 월별 추진 일정 | | | | | | | | | | | | 연구 개발비 (단위: 천원) | 책임자 (소속 기관) | |
|----------|-------------------|----------|---|---|---|---|---|----|----|----|---|---|---|--------------------------|-------------------|--------------------------|
| | | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 1 | 2 | 3 | | | |
| 1 | 계획수립 및 자료조사 | ■ | | | | | | | | | | | | | 2,400 | 강성영 (주한국생물 안전성연구소) |
| 2 | 시제품제조 | | ■ | ■ | ■ | | | | | | | | | | 3,500 | 문선주 (팜프랜드) |
| 3 | 약효약해시험 | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | | 20,000 | 강성영 (주한국생물 안전성연구소) |
| 4 | 유식물 약해시험 | | | | | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | | 6,000 | 강성영 (주한국생물 안전성연구소) |
| 5 | 독성 및 안전성시험 | | | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | | 15,000 | 강성영 (주한국생물 안전성연구소) |
| 6 | 이화학 및 농약다성분 분석 | | | | | | | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | | 600 | 강성영 (주한국생물 안전성연구소) |
| 7 | 유기농업자재 공시 등록 | | | | | | | | | ■ | ■ | ■ | ■ | | 2,500 | 강성영 (주한국생물 안전성연구소) |
| 8 | 생산공정확립 | | | | | | | | ■ | ■ | ■ | ■ | ■ | | 10,000 | 문선주 (팜프랜드) |

제 2 절 연구개발 내용 및 결과

1. 제제 연구

가. 원료 선정

과수 월동 병해충 방제에 사용되는 기계유와 석회유황합제의 문제점을 해결할 수 있는 2약제의 혼합제제를 개발하기 위하여 기계유와 석회유황합제를 대체할 수 있는 물질을 선정하고자 친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률 시행규칙의 별표 1에서 병해충 관리를 위하여 사용이 가능한 물질을 참고하여 대체 물질을 선정하였다.

기계유의 대체 물질로는 파라핀오일을 선정하였다. 파라핀오일은 석유에서 유래된 것으로 파라핀계 탄화수소가 많이 들어 있는 기름으로 중유를 증류하여 만들며 윤활유로

쓴다. 비중은 0.85~0.94이고, 끓는점이 높은 석유의 유분(溜分:330~390℃)을 재증류하여 세정·탈색 후에 납분(蠟分)을 여과·분리하여 얻는다. 완전 무색, 무취, 무미의 순수한 오일로서 인체에는 전혀 무해한 특성을 지니고, 에테르·클로로포름·이황화탄소 등에는 잘 녹으나 물·알코올 등에는 녹지 않는다. 처음에는 주로 약용·화장품원료·정밀기계유 등으로 사용되었으나 최근에 와서 화장품원료로는 다른 화학제품이 대체되어 사용하고 있으며 플라스틱 희석제 및 가소제, 고급 화장품과 약품의 기초원료 및 세척제 등 다양한 용도로 활용되어지고 있다. 파라핀오일의 농업에서 사용은 1800년대 말부터 감귤의 깍지벌레와 진딧물 등의 방제에 이용되었고, 1970년대 들어 유기합성 농약의 남용 문제가 대두되고 석유화학의 발달에 따른 약효는 증대시키고 약해를 경감시킨 파라핀오일이 개발되면서 파라핀오일의 유용성이 재평가 되었다. 특히, 인축 및 천적에 대한 독성이 낮고 해충 저항성을 유발시키지 않으면서도, 해충에 대한 직접적인 살충효과 이외에도 기피작용이 발견되어 호주, 미국 등에서는 오렌지, 목화 및 포도 등의 병해충종합관리(IPM) 체계에서 중요하게 이용되고 있다. 지금까지 외국에서 파라핀오일의 방제효과가 인정된 해충으로는 응애, 총채벌레, 온실가루이, 진딧물, 깍지벌레 등이 보고되어 있다. 본 연구 개발에 사용한 파라핀오일은 유동파라핀으로 (주)극동에서 구입하여 사용하였다.

석회유황합제의 대체 물질로는 일반 유황을 선정하였다. 황의 원소기호는 S, 원자량은 32, 녹는점은 115.21℃, 끓는점 444.6℃이다. 상온에서 주로 노란색의 고체이며 연소할 때 푸른색 불꽃을 내면서 매우 강하고 지독한 냄새가 나는 이산화황(SO₂)을 생성하며 많은 동소체와 동위원소가 존재한다. 황의 용도는 성냥·화학의 원료 및 약용·표백용으로 쓰인다. 황산·이황화탄소·성냥·흑색 화약·염료 등의 제조원료가 되며, 고무의 가황(황화·탈산황·황분말·침강황·콜로이드황 등이 사용된다)에 널리 쓰인다. 또한 농약·살충제의 제조원료가 되며, 펄프공업(아황산법)·합성섬유공업에 쓰이며, 의약품으로는 국부자극제·살기생충제·내복용의 정제황이 적합하며, 완화제로 변비와 치질환자에 사용된다. 황은 독성이 없으나 황화합물 이산화황이나 황화수소는 독성이 있으므로 사용 시 주의해야 한다. 황은 농업적으로 맛, 향, 색을 좌우하는 시스템인, 메티오닌 황 함유 아미노산의 주요 성분이며, 개략적으로 질소의 약 1/10 정도가 필요로 한다. 따라서 토양에 황이 부족하면 맛, 향, 색이 줄어들기 때문에 원예작물, 과수에는 반드시 황이 함유된 비료를 사용해야 하지만 과다하면 토양을 산성화시키는 부작용도 있다. 또한 황은 농약으로 등록되어 흰가루병, 녹병, 복숭아 잎오갈병, 감귤 더듬이병 등의 방제에 사용되고 있으며 석회유황합제 제조에도 사용되고 있다. 본 연구개발에 사용한 황은 (주)삼우화학에서 유기농업자재로 공시한 제품을 구입하여 사용하였다.

또한 살충활성을 상승시키기 위하여 식물추출물을 추가로 선정하였다. 선정한 식물추출물은 데리스 뿌리에서 추출한 데리스 추출물을 사용하였다. 데리스는 뉴기니 섬을 포함하여 동남아시아와 남서 태평양 군도 등에 분포되어 자라는 쌍떡잎식물 장미목 콩과의 덩굴성 관목식물이다. 데리스의 뿌리에 살충효과를 나타내는 성분 중 “로테논(rotenone)”이라는 성분은 해충 구제약으로 이용되었고 동남아시아에서는 예로부터 물고기를 잡을 목적으로 어독성이 강한 뿌리, 줄기, 잎을 찢어서 하천, 연못에 넣거나 화살독성분으로 이용하였다. 로테논은 녹는점이 163℃이고 무색 결정형 물질로서 물에는 녹지 않으나 석

유를 제외한 아세톤, 클로로포름 등 여러 가지 유기 용매에는 잘 녹습니다. 테리스제는 곤충의 소화기관, 기문, 체표면을 통하여 접촉·식독 작용에 의해 살충효과를 나타내며 효과는 지효성(遲效性)입니다. 사람·가축 등 포유동물에 대한 독성이 낮아 안전하나, 어패류에 대한 독성은 매우 높은 편이며, 작물에 대한 약해(藥害)는 없습니다. 국내외의 여러 회사에서 테리스분제, 테리스유제 형태의 생물농약 또는 유기농업자재로 널리 사용하고 있는 원료이다. 본 연구개발에 사용된 테리스 추출물은 중국에서 생산한 것으로 국내에서 수입하여 유기농업자재의 원료로 널리 사용하고 있다.

나. 유화제 및 보조제 선발

기계유와 석회유황합제의 대체 물질로 선정된 파라핀오일과 황을 혼합한 제제를 제조하기 위하여 유화제와 보조제 선발하였다.

황은 분말형태로 파라핀오일에 혼합되지 않는다. 황 분말과 파라핀오일을 혼합하기 위해서는 먼저 황을 물에 현탁할 수 있는 보조제, 물에 현탁된 황과 파라핀오일을 혼합할 수 있는 보조제, 황과 파라핀오일을 혼합한 후 황 분말의 침전 문제를 해결하기 위한 보조제 등의 선발을 하였다.

유화제 및 보조제 선발은 계면활성제를 전문으로 연구개발하여 생산하는 (주)유성화연테크에 의뢰하였고, (주)유성화연테크에서 선발한 유화제 및 보조제는 polyoxyethylene tristyrilphenol phosphate, potassium salt와 propylene glycol 혼합물(KSP40M), methacrylic acid-methylmethacrylate-polyethyleneglycol mrthylether methacrylate copolymer(SC600), propylene glycol(PG), xanthan gum(XG) 등 4종 물질이다.

다. 시제품 제조

기계유와 석회유황합제의 대체물질로 선정된 파라핀오일과 황을 혼합한 제제를 제조하기 위하여 선발된 4종의 유화제 및 보조제를 사용하여 (주)유성화연테크 부설유화연구소로부터 받은 시험처방에 따라 시제품을 제조하고 초기분산성, 희석안정성, 제제안정성을 조사하였다.

(주)유성화연테크 부설유화연구소의 시험처방은 표 1과 같다. 시제품 제조는 물에 보조제 KSP40M과 SC600을 넣고 혼합 교반하고 황을 투입하여 혼합 교반한다. 여기에 파라핀오일, 테리스추출물을 넣고 혼합 교반한 다음, PG에 XG를 넣어 분산시킨 액을 넣고 5시간 이상 교반하여 XG가 완전히 용해되도록 하여 시제품을 제조하였다.

제조된 시제품의 초기분산성, 희석안정성, 제제안정성을 시험하였다. 초기분산성은 20℃ 물에 1,000배로 희석하여 확인하였고, 희석안정성은 20℃ 물에 100~1,000배로 희석한 후 24시간 후에 확인하였고, 제제안정성은 -10℃, 실온, 54℃에 항온기에 보관하여 확인하였다. 시험결과, 초기분산성, 희석안정성, 제제안정성이 양호한 것으로 조사되었다.

[표 1] 시제품 시험처방

| 원료명 | 성분별 함유 내역 | | | | 투입비율 (%) |
|--------|--------------|---------|-------------|----------|----------|
| | 물질명 (화학명) | 함유량 (%) | CAS No. | EPA list | |
| [주원료] | | | | | |
| 황 | sulfur | 99.9 | | - | 25 |
| 파라핀오일 | paraffin oil | 100 | | - | 15 |
| 데리스추출물 | rotenone | 5 | | - | 4 |
| [보조성분] | | | | | |
| 보조제 | 물 | - | - | - | 45.8 |
| | CR-KSP40M | - | 163436-84-8 | 4B | 3 |
| | CR-SC600 | - | 100934-04-1 | 4B | 2 |
| | CR-PG | - | 57-55-6 | 4B | 5 |
| | CR-XG | - | 11138-66-2 | 4A | 0.2 |

2. 시제품의 이화학적 특성 연구

가. 유효성분 분석

시제품의 유효성분 분석은 주원료의 주성분인 sulfur, paraffin oil, rotenone을 분석하였고, 주성분 분석은 농업기술실용화재단에 의뢰하였다.

sulfur는 황분석기를 이용하여 분석한 결과는 그림 1과 같으며 분석함량이 24.8%로 분석되었다. paraffin oil은 중량법을 이용하여 분석하였고, 분석결과는 그림 2와 같이 16.85%로 분석되었다. rotenone은 HPLC를 이용하여 분석하였고, 분석결과는 그림 3과 같이 0.22%로 분석되었다.

분석 결과를 종합해보면 주성분의 분석치가 원료의 주성분 함유량 대비 투입량을 계산하여 대비하면 오차범위 내로 분석되는 것으로 확인되었다.

나. 유해성분 분석

시제품의 유해성분 분석은 유기농업자재 공시에 필요한 322종의 농약을 분석하였고, 농약 다성분 분석은 농업기술실용화재단에 의뢰하였다.

시제품의 농약 다성분을 분석한 결과는 그림 4와 같이 322종의 농약성분이 불검출 되는 것으로 확인되었다.

발급번호 : 18-PPA-7-00013

분석 성적서

| | | | | |
|-----------------------|--------|---|---------|--------------|
| ① 의 뢰 인 | 성 명 | 팜프랜드 | 사업자등록번호 | 870-03-00017 |
| | 주 소 | 27469 충청북도 충주시 대소원면 대학로 50 한국교통대학교 창업생산동 102호 | | |
| ② 의 뢰 내 용 | 대상 물품명 | 황금오일 | | |
| | 시험 개요 | 황분석기를 이용한 성분검사 | | |
| | 용 도 | 유기농업자재 공시 | | |

③ 분석(시험) 성적 :

| 항 목 | 성 적(단위) | 비고 |
|--------|-----------------|----|
| Sulfur | 24.8 % 이하 여백 | |

「농업기술실용화재단 분석검정 의뢰 및 처리규정」 제4조의 규정에 의하여 2018년 01월 23일자로 의뢰한 시료에 대한 분석(시험) 성적입니다.

2018년 02월 14일

이 성적은 신청인이 제출한 시료를 분석한 것으로 관
련사항 이외의 선전 소송 등 증거자료로 사용하실 수
없습니다.

농업기술실용화재단 이사장



발급번호 : 18-PPA-7-00032

분석 성적서

| | | | | |
|-----------------------|---------|---|---------|--------------|
| ① 의 뢰 인 | 성 명 | 팜프랜드 | 사업자등록번호 | 870-03-00017 |
| | 주 소 | 27469 충청북도 충주시 대소원면 대학로 50 한국교통대학교 창업생산동 102호 | | |
| ② 의 뢰 내 용 | 대상 물품명 | 황금오일 | | |
| | 시 험 개 요 | 중량법을 이용한 성분검사 | | |
| | 용 도 | 유기농업자재 공시 | | |

③ 분석(시험) 성적 :

| 항 목 | 성 적(단위) | 비고 |
|------------|------------------|----|
| 주성분(파라핀오일) | 16.85 % 이하 여백 | |


「농업기술실용화재단 분석검정 의뢰 및 처리규정」 제4조의 규정에 의하여 2018년 02월 09일 자로 의뢰한 시료에 대한 분석(시험) 성적입니다.


2018년 02월 28일

이 성적은 신청인이 제출한 시료를 분석한 것으로
관련사항 이외의 선전 소송 등 증거자료로 사용하지
수 없습니다.

농업기술실용화재단 이사장



| 발급번호 : 18-PPA-7-00033 | | | | | | | | | | |
|--|-----------------|---|---------|--------------|-----|---------|----|----------|-----------------|--|
| 분 석 성 적 서 | | | | | | | | | | |
| ① 의 뢰 인 | 성 명 | 팜프랜드 | 사업자등록번호 | 870-03-00017 | | | | | | |
| | 주 소 | 27469 충청북도 충주시 대소원면 대학로 50 한국교통대학교 창업생산동 102호 | | | | | | | | |
| ② 의 뢰 내 용 | 대상 물품명 | 황금오일 | | | | | | | | |
| | 시 험 개 요 | HPLC를 이용한 성분검사 | | | | | | | | |
| | 용 도 | 유기농업자재 공시 | | | | | | | | |
| ③ 분석(시험) 성적 : | | | | | | | | | | |
| <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 30%;">항 목</th> <th style="width: 30%;">성 적(단위)</th> <th style="width: 40%;">비고</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="padding: 5px;">Rotenone</td> <td style="text-align: center; padding: 5px;">0.22 % 이하 여백</td> <td></td> </tr> </tbody> </table> | | | | | 항 목 | 성 적(단위) | 비고 | Rotenone | 0.22 % 이하 여백 | |
| 항 목 | 성 적(단위) | 비고 | | | | | | | | |
| Rotenone | 0.22 % 이하 여백 | | | | | | | | | |
| <p>「농업기술실용화재단 분석검정 의뢰 및 처리규정」 제4조의 규정에 의하여 2018년 02월 09일 자료 의뢰한 시료에 대한 분석(시험) 성적입니다.</p> <p style="text-align: right;">2018년 02월 28일</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 10px auto;"> <p>이 성적은 신청인이 제출한 시료를 분석한 것으로 관련사항 이외의 선전 소송 등 증거자료로 사용하지 수 없습니다.</p> </div> <p style="text-align: center; margin-top: 20px;">농업기술실용화재단 이사장</p> <div style="text-align: right; margin-top: 10px;">  </div> | | | | | | | | | | |

| | | | | |
|---|---------|---|---------------|---|
| 발급번호 : 18-PPA-7-00048 | | | | |
| 분 석 성 적 서 | | | | |
| ① 의 뢰 인 | 성 명 | 팜프랜드 | 사업자등록번호 | 870-03-00017 |
| | 주 소 | 27469 충청북도 충주시 대소원면 대학로 50 한국교통대학교 창업생산동 102호 | | |
| ② 의 뢰 내 용 | 대상 물품명 | 황금오일 | | |
| | 시 험 개 요 | MS/MS를 이용한 성분검사 | | |
| | 용 도 | 유기농업자재 공시 | | |
| ③ 분석(시험) 성적 : | | | | |
| 항 목 | | 성 적(단위) | 비고 | |
| 다성분농약(322성분) | | 불검출 mg/kg 이하 여백 | | |
| 「농업기술실용화재단 분석검정 의뢰 및 처리규정」 제4조의 규정에 의하여 2018년 01월 23일자로 의뢰한 시료에 대한 분석(시험) 성적입니다. | | | | |
| | | | 2018년 03월 06일 | |
| <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; display: inline-block;"> 이 성적은 신청인이 제출한 시료를 분석한 것으로 관련사항 이외의 선전 소송 등 증거자료로 사용하지 수 없습니다. </div> | | | | |
| 농업기술실용화재단 이사장 | | | |  |

3. 시제품 안전성 연구

가. 랫드에 대한 급성경구독성

(1) 시험재료 및 방법 [Materials and Methods]

(가) 시험물질

- ① 물질명 : 황금오일
- ② 입수일 : 2017년 10월 13일
- ③ 입수량 : 500 mL
- ④ 시료번호 : 17-1-076
- ⑤ 외관 및 색상 : 연노란색, 액상
- ⑥ 주원료 : 황, 파라핀오일, 테리스추출물
- ⑦ 주원료 투입비율 : 44% (황 25%+파라핀오일 15%+테리스추출물 4%)
- ⑧ 보관조건 : 실온
- ⑨ 공급원 : 팜프랜드

(나) 시험동물

- ① 시험계
 - Rat : Sprague-Dawley (SD), SPF
- ② 공급원
 - 명칭 : 한림실험동물연구소
 - 소재지 : 경기도 화성시 봉담읍 유리 254-1
 - 연락처 : 031-227-5955

③ 시험계의 선택사유

농촌진흥청고시 제 2017-26호 인축독성시험 기준과 방법에 시험동물로 랫드를 추천하고 있으며, 본 계통에 대한 기초자료가 충분히 축적되어 있으므로 시험결과 해석 및 평가가 용이하여 선택하였다.

④ 주령 및 체중범위

| 시험약제 투여시 | 1단계 (2000 mg/kg bw) | 2단계 (2000 mg/kg bw) |
|----------|------------------------|------------------------|
| 주령(주) | 8 | 8 |
| 체중(g) | 198.0 ~ 200.5 | 206.0 ~ 214.0 |

⑤ 순화 및 검역

시험단계별로 동물을 구입한 후 1단계 및 2단계 시험은 각각 5일, 8일 동안 동물실험실의 환경하에서 순화시키면서 일반 건강상태를 관찰하여 건강한 개체를 선별, 본 시험에 사용하였다.

(다) 사육환경 및 관리

급성경구독성시험과 동일한 사육환경 및 조건에서 관리

본 시험의 사육환경은 온도 23±2℃, 상대습도 50±10%, 환기시설 (공조기),

조명시간 12시간 (오전7시~오후7시) 및 조도 200 ~ 300 Lux의 실험실조건에서 사료와 음용수를 급여하여 순화 및 시험기간 동안 격리 사육하였다.

② 사육상자

순화 및 시험기간 중 폴리카보네이트 사육상자 (26 × 42 × 18 cm)에 3마리씩 넣어 깔짚을 깔아 사육하였다.

③ 사료 및 음용수

사료는 실험동물용 고품사료 [Cargill Agri Purina Korea Inc.]를 자유 급식시켰으며 음용수는 정수필터를 통과한 지하수를 자유 섭취시켰다.

(라) 투여약량수준설정 및 약제조제

① 투여약량수준설정

시험에 사용된 황, 파라핀오일, 테리스추출물은 당연구소에서 유기농자재들의 시험한 자료들을 검토한 결과 독성이 낮을 것으로 평가되어 1단계 시험에서 최고투여약량인 2000 mg/kg bw로 투여하였고, 투여 후 72시간 동안 치사 및 일반중독증상이 관찰 되지 않아, 동일한 농도로 투여약량을 설정하여 2단계 시험을 실시하였다.

② 실험동물 수 / 개체식별

실험동물 수는 각 단계별 암컷 3마리를 1군으로 하였으며, 개체식별은 피크린산 용액을 이용하여 피모색소 표시를 하고, 사육상자는 군식별정보를 부착하여 식별하였다.

③ 용매대조군의 설정

증류수로 시험물질을 조제하여 용매대조군은 따로 설정하지 않았다.

④ 용매의 선택과 시험용액 조제

- 1단계 / 2단계 시험 (2000 mg/kg bw)

시험용액은 1단계 및 2단계 시험에서 투여직전 각각 동일하게 조제하여 시험에 사용하였고, 시험용액 조제 시 용매는 2차 증류수를 사용하였으며 액상인 시험물질을 저울로 2.0 g 정확히 평량하여 5 mL의 volumetric flask에 넣고 2차 증류수를 표선까지 정용한 후 vortex로 충분히 현탁하여 시험용액 (test solution)으로 사용하였다.

⑤ 투여액량 (volume)설정

투여액량은 5 mL/kg bw로 설정하였다.

(마) 시험물질의 투여

① 사료의 절식

시험물질 투여개시 하룻밤 전부터, 시험물질 투여 후 3시간 동안은 먹이를 주지 않았다.

② 투여경로 및 투여방법

랫드 경구투여용 зонде (Sonde)를 이용하여 투여 전 체중 측정치를 기준으로 소정의 시험물질 투여약량을 산출한 후, 경구투여 경로로 위내 1회에 한하여 강제 투여하였다.

(2) 관찰 및 측정 [Observation and Determination]

(가) 일반중독증상 및 치사동물

처리 당일은 처리 후 30분, 1시간에서 4시간까지 매 시간마다 일반중독증상 및 치사수를 관찰하였으며, 익일부터는 매일 1회씩, 투여 개시 후 14일째까지 관찰 및 조사하였다.

(나) 체중측정

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

(다) 부검

실험종료일에 모든 개체에 대하여 부검을 실시하였다.

(라) 반수치사약량 (LD₅₀) 산출

급성경구독성 시험을 독성등급법에 의해 실시하여 LD₅₀을 산출하였으며, 농약관리법 시행규칙[별표 3의5], 농약 등의 독성 및 잔류성정도별 구분에 준하여 독성을 구분하였다.

(3) 시험결과 [Results]

(가) 일반중독증상 및 치사동물 (Table 1., Appendix 1., 2.)

황금오일은 1단계 및 2단계 시험 투여약량 2000 mg/kg bw에서 일반중독증상을 보이거나 치사한 개체가 관찰되지 않았다.

(나) 체중변화 (Table 2., Appendix 3.)

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

(다) 부검소견 (Appendix 4.)

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

(라) 반수치사약량 (LD₅₀)

랫드에 대한 황금오일의 급성경구독성시험 결과, 농약관리법 시행규칙 [별표 3의5] 농약 등의 독성 및 잔류성정도별 구분에 의거 IV급 (저독성)으로 구분되었다.

나. 랫드에 대한 급성경피독성

(1) 시험재료 및 방법 [Materials and methods]

(가) 시험물질

급성경구독성 시험에 사용한 시료와 동일한 물질

(나) 시험동물

급성경구독성 시험에 사용한 동일한 동물을 사용

(다) 사육환경 및 관리

급성경구독성시험의 사육환경과 동일하게 관리

(라) 투여약량수준설정 및 약제조제

① 투여약량수준설정

암수 모두 한계투여약량인 4000 mg/kg bw로 설정하여 시험을 실시하였다.

② 실험동물 수 / 개체식별

시험 동물 수는 암수 각각 5마리씩 10마리를 1군으로 하였으며, 개체식별은 피크린산 용액을 이용하여 피모색소 표시를 하고, 사육 상자는 군 식별정보를 부착하여 관리하였다.

③ 용매대조군의 설정

증류수를 이용하여 시험물질을 조제하였기에 용매대조군은 따로 설정하지 않았다.

④ 용매의 선택과 시험용액 조제

시험용액 조제 시 용매는 2차 증류수를 사용하였으며 시험물질 16.0 g을 정확히 평량하여 20 mL의 volumetric flask에 넣고 2차 증류수를 표선까지 정용한 후 vortex로 충분히 현탁하여 시험용액 (test solution)으로 사용하였다.

⑤ 처리액량 (volume)설정

처리액량은 처리약량수준별 공히 5 mL/kg bw로 설정하였다.

(마) 시험물질의 투여

① 약제처리경로 및 처리방법

시험동물은 시험물질처리 하루 전에 등부위에 체모기를 이용하여 5 × 6 cm이상 크기 넓이로 체모하고, 4 × 4 cm 크기 면적의 거즈에 시험용액을 균일하게 묻힌 다음 체모 된 부위에 Coban (self-adherentwrap, 3M 社)으로 고정 / 유지 시켰다.

② 시험물질의 제거

등부위에 도포시킨 시험물질은 24시간 후 제거하고 피부에 묻은 잔여 물질은 증류수로 잘 닦고 의료용 탈지면으로 물기를 흡수시킨 다음 케이지에

넣어두었다.

(2) 관찰 및 측정 [Observation and determination]

(가) 일반중독증상 및 치사동물

처리 당일은 처리 후 30분, 1시간에서 4시간까지 매 시간마다 일반중독증상 및 치사수를 관찰하였으며, 익일부터는 매일 1회씩, 투여 개시 후 14일째까지 관찰 및 조사하였다.

(나) 체중측정

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

(다) 부검

모든 시험동물에게서 특이한 중독증상 및 치사개체가 발견되지 않아 부검을 실시하지 않았다.

(라) 반수치사약량(LD₅₀) 산출

농촌진흥청고시 제 2017-26호 농약 및 원제의 등록기준에 의해 시험을 실시한 결과, 시험고시의 최고용량에서 모든 시험동물이 생존하여 시험종료 후 통계처리는 생략하였다.

(3) 시험결과 [Results]

(가) 일반중독증상 및 치사동물 (Table 1., Appendix 1., 2.)

황금오일을 한계투여약량 4000mg/kg bw로 경피 노출한 결과, 생존한 모든 개체에서 특이한 일반중독 증상은 관찰되지 않았으며 치사개체도 관찰되지 않았다.

(나) 체중변화 (Table 2., Appendix 3.)

모든 시험동물의 체중은 약제투여 후 경과 일에 따라 증가추세를 보였다.

(다) 반수치사약량 (LD₅₀)

랫드에 대한 황금오일의 급성경피독성시험 시험 결과, LD₅₀값은 4000mg/kg bw 이상으로 농약관리법에 의거 독성을 구분하면 IV급 (저독성)에 해당되었다.

다. New Zealand White계 토끼에 대한 피부자극성시험

(1) 시험재료 및 방법 [Materials and methods]

(가) 시험물질

급성경구독성 시험시료와 동일한 물질 사용

(나) 시험동물

① 시험계 : 토끼 (New Zealand White계)

② 공급원

- 명칭 : 한림실험동물연구소
- 소재지 : 경기도 화성시 봉담읍 유리 254-1
- 연락처 : 031-227-5955

③ 시험계의 선택사유

농촌진흥청고시 제 2017-26호 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.

④ 체중범위

| 구 분 | 입수시 체중 (kg) | 처리시 체중 (kg) |
|------|-------------|-------------|
| 시험동물 | 1.9 ~ 2.0 | 1.9 ~ 2.2 |

⑤ 순화 및 검역

동물을 구입한 후 5일 동안 동물실험실의 환경하에서 순화시키면서 일반 건강상태를 관찰하여 건강한 개체만을 시험에 이용하였다.

⑥ 군분리

군분리 시 제모를 실시하여 피부에 이상이 없는 동물만 선택하여 시험하였다.

⑦ 개체식별

사육 상자에 개체식별정보를 부착하여 식별하였다.

(다) 사육환경 및 관리

① 사육환경

본 시험의 사육환경은 온도 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 환기시설 (공조기), 조명시간 12시간 (오전7시~오후7시) 및 조도 200 ~ 300 Lux의 실험실조건에서 사료와 음용수를 급여하여 순화 및 시험기간 동안 격리 사육하였다.

② 사육상자

순화 및 시험기간 중 stainless steel 사육상자 (50 × 38 × 40 cm)안에 넣어 사육하였다.

③ 사료 및 음용수

사료는 토끼용 펠렛사료 [Cargill Agri Purina Korea Inc.]를 자유 급식시켰으며 음용수는 정수필터를 통과한 지하수를 자유 섭취시켰다.

(라) 시험물질의 처리

① 시험군의 구성

실험동물은 건강하고 성숙한 동물 3마리를 사용하여 1군으로 구성하였다.

② 시험물질 조제

시험물질이 액상으로 처리부위에 직접 처리함으로 조제하지 않고 처리하였다.

③ 처리량 설정

처리량은 처리 군별 공히 0.5 mL로 설정하였다.

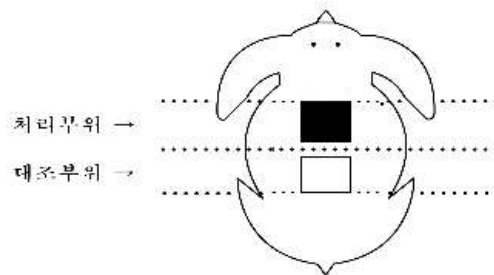
④ 처리방법

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

⑤ 시험물질의 제거

시험물질 처리 4시간 후 패치를 제거하고 피부에 묻은 잔여물질은 증류수로 세척하여 모두 제거 한 후 의료용 탈지면으로 물기를 흡수시킨 다음 케이지에 넣어 두었다.

Figure 1. 피부자극성시험 부위별
처리방법



(2) 관찰 및 측정 [Observation and determination]

(가) 일반중독증상 및 치사

시험물질 처리 후 72시간까지 일반증상의 변화, 중독증상 및 치사동물의 유·무를 관찰하였다.

(나) 체중 측정

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

(다) 처리부위 관찰

시험물질 도포 종료 후 1, 24, 48 및 72시간에 홍반, 부종 및 가피형성 유·

무를 관찰하였다.

(라) 피부반응의 평가 및 자극성의 판정

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

- 피부반응 평가표

| | |
|--|----------|
| (1) 홍반과 가피형성 | |
| 홍반이 전혀 없음 | 0 |
| 아주 가벼운 홍반 (육안으로 겨우 식별할 정도) | 1 |
| 분명한 홍반 | 2 |
| 약간 심한 홍반 | 3 |
| 심한 홍반 (홍당무 색의 발적)과 가벼운 정도의 가피형성 | 4 |
| 총가능한홍반점수 | 4 |
| (2) 부종형성 | |
| 부종이 전혀 없음 | 0 |
| 아주 가벼운 부종 (육안으로 겨우 식별할 정도) | 1 |
| 가벼운 부종 (뚜렷하게 부어 올라서 변연부가 분명히 구별될 경우) | 2 |
| 보통의 부종 (약 1 mm 정도 부어 올랐을 경우) | 3 |
| 심한 부종 (1 mm 이상 부어오르고 노출부위 밖에까지 확장된 상태) | 4 |
| 총가능한부종점수 | 4 |

- 피부 1차 자극표

| 자극성구분 | 기준 |
|-------|-----------------------------|
| 없 음 | 1차 피부자극지수 (P.II)가 1.0 이하 |
| 경 도 | 1차 피부자극지수 (P.II)가 1.1 ~ 2.0 |
| 중 도 | 1차 피부자극지수 (P.II)가 2.1 ~ 5.0 |
| 강 도 | 1차 피부자극지수 (P.II)가 5.1 이상 |

(3) 시험결과 [Results]

(가) 일반중독증상 및 치사동물 수

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

(나) 체중변화

시험물질 처리직전, 처리 후 48시간과 72시간에 개체별 체중을 측정한 결과, 시간이 경과함에 따라 증가추세를 보였다.

(다) 피부반응의 평가

시험물질 노출 종료 후 1, 24, 48 및 72시간에 피부반응평가표를 기준으로 피부반응을 관찰한 결과, 시험물질 처리 후 홍반 및 부종 등의 어떠한 피부반응도 관찰되지 않았다.

(라) 자극성의 판정

피부반응평가표에 의해 1차 피부자극지수 (Primary Irritation Index, P.I.I.)를 산출한 결과, P.I.I.는 “0.0” 이었고 피부 1차 자극표에 의해 자극성을 구분하면 “없음” 이었다. 이상의 결과로부터 황금오일은 New Zealand White계 토끼의 피부에 처리 시 자극성이 없는 물질로 구분되었다.

라. New Zealand White계 토끼에 대한 안점막자극성시험

(1) 시험재료 및 방법 [Materials and methods]

(가) 시험물질

피부자극성 시험과 동일한 물질을 사용

(나) 시험동물

① 시험계 : New Zealand White계 토끼

② 공급원

- 명칭 : 한림실험동물연구소

- 소재지 : 경기도 화성시 봉담읍 유리 254-1

- 연락처 : 031-227-5955

③ 시험계의 선택사유

본 시험에 사용된 New Zealand White계 토끼는 안점막자극성시험에 널리 사용되고 있으며 본 계통에 대한 기초자료가 충분히 축적되어 있으므로 시험결과 해석 및 평가가 용이하여 선택하였다.

④ 체중범위

| 구 분 | 입수시 체중 (kg) | 처리시 체중 (kg) |
|------|-------------|-------------|
| 비세척군 | 1.9 ~ 2.0 | 2.1 ~ 2.2 |

⑤ 순화 및 검역

동물을 구입한 후 각 5일 동안 동물실험실의 환경 하에서 순화시키면서 일반 건강상태를 관찰하여 건강한 개체를 선별, 본 시험에 사용하였다.

⑥ 군분리

시험동물은 시험물질 투여 24시간 전에 양쪽 눈을 검사하여 눈에 이상이

없는 동물을 사용하였다.

⑦ 개체식별

사육 상자에 개체식별정보를 부착하여 식별하였다.

(다) 사육환경 및 관리

① 사육환경

본 시험의 사육환경은 온도 $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $50 \pm 10\%$, 환기시설 (공조기계), 조명시간 12시간 (오전7시~오후7시) 및 조도 200 ~ 300 Lux의 실험실조건에서 사료와 음용수를 급여하여 순화 및 시험기간 동안 격리 사육하였다.

② 사육 상자

순화 및 시험기간 중 stainless steel 사육상자 (50 × 38 × 40 cm)안에 넣어 사육하였다.

③ 사료 및 음용수

사료는 토끼용 펠렛사료 [Cargill Agri Purina Korea Inc.]를 자유 급식시켰으며 음용수는 정수필터를 통과한 지하수를 자유 섭취시켰다.

(라) 시험물질의 투여

① 시험군의 구성

| 군 | 동물수 | 좌우구분 | 처리 |
|------|-----|------|------|
| 비세척군 | 3 | 좌 안 | 시험물질 |
| | | 우 안 | 무 처리 |

② 시험물질 조제

시험물질이 액상으로 처리부위에 직접 투여함으로 조제하지 않고 처리하였다.

③ 투여량 설정

투여량은 투여 개체별로 0.1 mL로 설정하였다.

④ 투여방법

시험동물은 시험개시 전 24시간 이내에 양쪽 눈을 검사하여 눈에 이상이 없는 동물을 사용하였다. 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.

(2) 관찰 및 측정 [Observation and determination]

(가) 일반중독증상

시험물질 처리 후 72시간까지 일반증상의 변화, 중독증상 및 치사동물의 유·무를 관찰하였다.

(나) 체중 측정

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

(다) 안반응 (眼反應)의 평가

안반응의 평가는 “안반응평가표”에 따라 실시하였다. 시험물질 처리 후 1, 24, 48 및 72시간에 각막혼탁, 홍채이상, 결막발적, 부종, 배출물 등 평점을 기록하였다.

(라) 자극성의 평가

안반응평가표에 의해 개체별 안자극 지수 (I.O.I., individual ocular irritation) 및 평균 안자극 지수 (M.O.I., mean ocular irritation)를 산출하여 평균안자극 지수 중 최고치를 급성안자극 지수 (A.O.I., acute ocular irritation)로 하였다. 이 결과로 안점막자극표를 이용하여 자극성의 정도를 구분하였다.

[안반응평가표]

| | |
|---|----|
| 1) 각막 | |
| (A) 혼탁 : 안구의 농후한 정도(가장 농후한 지점을 관찰함) | 평점 |
| ◦ 화농이나 혼탁이 없음 | 0 |
| ◦ 혼탁이 분산 혹은 밀집되어 있으나(정상적인 투명성이 약간 둔화 된 것과는 다름)홍채의 말단이 명확히 관찰됨 | 1 |
| ◦ 반투명한 부분이 쉽게 관찰됨, 홍채의 말단이 약간 불명확함 | 2 |
| ◦ 진주색깔을 나타냄, 홍채의 말단이 관찰안됨, 동공의 크기가 가까스로 관측됨.. | 3 |
| ◦ 각막이 불투명, 혼탁 때문에 홍채가 관찰안됨 | 4 |
| (B) 혼탁된 각막의 범위 | |
| ◦ 1/4이하(그러나 0은 아니다) | 1 |
| ◦ 1/4이상 1/2미만 | 2 |
| ◦ 1/2이상 3/4미만 | 3 |
| ◦ 3/4이상 1까지 | 4 |
| A×B×5 | |
| 최대치 = 80 | |
| 2) 홍채 | |
| (C) 반응치 | |
| ◦ 정상..... | 0 |
| ◦ 현저한 주름의 형성, 충혈, 종창, 각막주위에 중등도의 충혈, 이상과 같은 단독 혹은 혼합, 홍채는 빛에 대해 반응함(둔한 반응은 양성)..... | 1 |
| ◦ 빛에 대해 반응 없음, 충혈, 대부분 파괴(이상과 같은 증상의 일부 혹은 전부)... | 2 |
| C×5 | |
| 최대치 = 10 | |

3) 결막

(D) 발적(안검결막, 안구결막에 한함, 홍채 제외)

- 혈관은 정상..... 0
- 일부 혈관 충혈..... 1
- 옅은 선홍색을 띄거나 각각의 혈관이 쉽게 관찰 안됨..... 2
- 짙은 선홍색..... 3

(E) 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

(F) 배출물

- 배출물 없음..... 0
- 약간의 배출물(정상동물의 내부 눈꼬리에서 관찰되는 작은양 제외)..... 1
- 속눈썹과 눈꺼풀을 적실 정도의 배출물..... 2
- 눈주위의 상당한 부위와 속눈썹 및 눈꺼풀을 적실 정도의 배출물..... 3

점수(D+E+F) × 2
 최대치 = 20

[안점막자극표]

| 자극성구분 | 기준 |
|-------|-------------------------------|
| 없 음 | 급성안자극지수 (A.O.I.)가 10.0 이하 |
| 경 도 | 급성안자극지수 (A.O.I.)가 10.1 ~ 30.0 |
| 중 도 | 급성안자극지수 (A.O.I.)가 30.1 ~ 60.0 |
| 강 도 | 급성안자극지수 (A.O.I.)가 60.1 이상 |

(3) 시험결과 [Results]

(가) 일반중독증상 및 치사동물 수

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

(나) 체중변화

시험물질 처리직전, 처리 후 48시간과 72시간에 개체별 체중을 측정한 결과, 시간이 경과함에 따라 증가추세를 보였다.

(다) 안반응의 평가

[시험군별 안자극지수]

| Time | Animal. No. | Non-treatment | | | Treatment | | |
|-------|-------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| | | I.O.I. ^{a)} | M.O.I. ^{b)} | A.O.I. ^{c)} | I.O.I. ^{a)} | M.O.I. ^{b)} | A.O.I. ^{c)} |
| 1 hr | 1 | 0 | 0 | 0.0 | 6 | 5.3 | 5.3 |
| | 2 | 0 | | | 6 | | |
| | 3 | 0 | | | 4 | | |
| 24 hr | 1 | 0 | 0 | | 6 | 4.0 | |
| | 2 | 0 | | | 6 | | |
| | 3 | 0 | | | 0 | | |
| 48 hr | 1 | 0 | 0 | | 0 | 0.0 | |
| | 2 | 0 | | | 0 | | |
| | 3 | 0 | | | 0 | | |
| 72 hr | 1 | 0 | 0 | 0 | 0.0 | | |
| | 2 | 0 | | 0 | | | |
| | 3 | 0 | | 0 | | | |

a: I.O.I. (Individual Ocular Irritation)

b: M.O.I. (Mean Ocular Irritation)

c: A.O.I. (Acute Ocular Irritation) = the maximum value of M.O.I.

비세척군-1

- 무처리 대조군인 우안에서는 어떠한 자극성도 관찰되지 않았다.
- 1 시간부터 24 시간째 관찰 시까지, 시험물질 처리군에서 결막의 발적과 부종에 대한 자극증상과 배출물이 관찰되었다.
- 48 시간째 관찰 시, 모든 반응이 소실되어 정상으로 회복되었다.

비세척군-2

- 무처리 대조군인 우안에서는 어떠한 자극성도 관찰되지 않았다.
- 1 시간부터 24 시간째 관찰 시까지, 시험물질 처리군에서 결막의 발적과 부종에 대한 자극증상과 배출물이 관찰되었다.
- 48 시간째 관찰 시, 모든 반응이 소실되어 정상으로 회복되었다.

비세척군-3

- 무처리 대조군인 우안에서는 어떠한 자극성도 관찰되지 않았다.
- 1 시간째 관찰 시, 시험물질 처리군에서 결막의 발적과 부종에 대한

자극증상이 관찰되었다.

- 24 시간째 관찰 시, 모든 반응이 소실되어 정상으로 회복되었다.

(라) 자극성의 판정

안반응 평가표에 의해 평가된 안점막자극정도를 처리하여 급성안자극지수 (A.O.I.)를 산출한 결과, A.O.I.는 “5.3”이었다. 이상의 시험결과, New Zealand White계 토끼에 대한 황금오일의 안점막자극성시험에서 자극성은 [안점막자극표]에 의거 “없음”으로 구분되었다.

마. 꿀벌 (*Apis mellifera*)에 대한 급성접촉독성시험

(1)재료 및 방법 [Materials and Methods]

(가) 시험물질

급성경구독성 시험과 동일한 물질을 사용

(나) 시험생물

① 시험생물

- 시험종 : 꿀벌 (*Apis mellifera*)
- 공급원 : (주)한국생물안전성연구소
- 주소 : 충청북도 음성군 감곡면 성주로 362-20
- 입수일 : 2014.07.28

② 사육

- 사육장소 : (주)한국생물안전성연구소 꿀벌야외사육소
- 사육상자 : 장방형 나무소재 벌통
- 사육조건 : 당 연구소의 기존 생물군으로부터 자연 분봉된 꿀벌 세력을 꿀벌 야외사육소에서 입수일 부터 본 시험 시까지 순화 및 자연사육 하였다.
 - 사육관리 : 입수 이후 동절기 (월동), 장마 기간 등 사육관리자의 판단에 의해 필요시 고농도 (60% 이상) 자당용액을 급이 하였으며, 하절기 (3월~10월)에는 월 2회 이상 벌집 내부를 점검하여 봉군의 건강상태를 확인하고, 세력이 강할 경우 분봉 등을 통하여 관리하였다.

③ 시험종의 선정이유

본 시험에 사용된 꿀벌 (*Apis mellifera*)은 환경생물독성 시험생물로 널리 사용되고 있고, 본 계통에 관한 비교할 수 있는 충분한 시험 기초자료가 축적되어 있으며, 해당 시험가이드라인에서 추천된 종이기 때문에 선정하였다.

(다) 시험재료 및 준비

① 시험용 용기

스테인리스 철망을 이용하여 길이 15 cm, 직경 5 cm 크기의 원통형으로 만들어진 시험용케이지에 입구를 원통형 유리제 급식관 (직경 1 cm, 길이 5

cm 정도)을 끼울 수 있도록 구멍을 뚫은 스펀지 마개를 사용하였다.

② 먹이

실험실시 전 50% 자당용액을 유리급식관에 2 mL 이상 채워 준비하였다.

③ 시험물질 노출 전 시험생물 처리

환기구멍이 있는 밀폐통에 한 벌통에서 생산된 건강하고 활동성이 좋은 일벌을 채집하여 CO₂ gas로 마취시킨 후, 어린 개체를 제외하고 한 케이지 당 10마리씩 벌을 넣어 25°C±2의 암조건에서 회복시킨 다음 시험에 사용하였다.

(라) 시험방법

① 시험약량설정

시험물질의 독성이 낮을 것으로 예상되어 한계시험으로 진행하였고, 주원료 투입비율 기준 100.000 µg/bee로 설정하였다.

② 시험용액 조제

시험물질 황금오일은 acetone, methanol 등의 용매를 사용하여 시험용액 조제 시, 대부분 용해되지 않아 증류수와 acetone을 8:2의 비율로 희석한 용매를 사용하여 시험용액을 조제하였다. 시험물질 2.273 g을 10 mL volumetric flask에 넣고 용매를 일부 가해 현탁시킨 다음 표선까지 정용하였다. 이후 vortex mixer를 이용해 충분히 용해시켜 100.000 µg/µL의 시험용액 (test solution)을 조제하였다.

③ 시험물질 노출

케이지 안에 10마리씩 수용된 꿀벌들을 밀봉팩에 담아 CO₂ gas로 마취시킨 후 여과지 위에 올려놓고, 조제된 시험용액을 micro applicator를 사용하여 마취된 꿀벌의 흉부 (등부위)에 각각 1 µL씩 처리하였다.

④ 노출 생물수

무처리군과 음성대조군 그리고 시험물질 처리군 당 10마리씩 3반복으로 수행하였다.

⑤ 대조군 설정

- 무처리군 : 마취 후 어떠한 자극도 주지 않았다.
- 음성대조군 : 시험용액 조제 시 사용된 용매를 개체 당 1 µL씩 처리 하였다.
- 양성대조군 : 가장 최근에 실시한 시험결과로 대치하였다 (Appendix 1).

⑥ 시험환경

- 기간 : 48시간
- 광주기 : 암조건 (관찰시간 제외)
- 온도 : 23.0~27.0°C
- 상대습도 : 50.0~70.0%
- 먹이공급 : 시험물질이 처리된 벌을 다시 케이지에 옮긴 후, 50% 자당용액이 들어있는 급식관을 공급하였다.

(2) 관찰 및 측정 [Observation and Determination]

(가) 관찰

시험물질 노출 후 4, 24시간 및 48시간 경과 시에 중독증상 및 치사 개체를 관찰하였다. 중독증상은 일반중독증상, 특이증상 등을 관찰하였으며, 치사 개체의 판정은 육안으로 관찰하여 움직임이 없고 주사침을 이용하여 건드렸을 때 더듬이, 다리 및 몸통의 움직임이 중단된 경우 치사로 간주하였다.

(나) 실내온도 및 상대습도

실험실 실내온도 및 상대습도는 시험개시부터 60분 간격으로 자동 전자 온습도 기록계 (Thermo recorder TR-72U, Thermo Scientific™, USA)를 이용하여 측정 하였다.

(다) 시험결과의 표시 및 통계처리방법

본 시험이 한계시험 단계에서 종료됨에 따라 주원료 투입비율을 기준으로 설정한 한계시험 약량의 초과로서 24, 48시간 반수치사약량 (LD₅₀)을 표기하였다.

(3) 시험결과 [Results]

(가) 시험환경 조건

시험기간 동안 꿀벌실험실의 실내온도는 평균 26.0℃ (24.8~26.7℃), 상대습도는 평균 59.0% (51.0~62.0%)로 측정되었다.

(나) 치사개체 및 중독증상

시험물질 노출 후 48시간동안 관찰한 결과, 무처리군과 음성대조군 그리고 시험물질 처리군에서 치사 및 중독증상을 보인 개체는 관찰되지 않았다.

(다) 급성접촉독성시험 결과

이상의 시험 결과, 황금오일의 꿀벌에 대한 24, 48시간 반수치사약량 (LD₅₀)은 주원료 투입비율 기준으로 모두 100.000 µg/bee 초과이었다.

| Observation time (hr) | LD ₅₀ ^a (µg/bee) |
|-----------------------|--|
| 24 & 48 | > 100.000 |

a: Based on nominal dose of main ingredient input ratio

바. 담수어류 (송사리, *Oryzias latipes*)에 대한 급성독성시험

(1) 시험재료 및 방법 [Materials and Methods]

(가) 시험물질

경구급성독성 시험과 동일한 물질을 사용

(나) 시험생물

① 시험어종 (학명) : 송사리 (*Oryzias latipes*)

② 시험종 선정이유

본 시험에 사용된 *Oryzias latipes*는 수생 생태계의 유해성 평가에 널리 사용되고 있고, 본 계통에 관한 비교할 수 있는 충분한 시험기초자료가 축적되어 있으며, 농촌진흥청 및 OECD 가이드라인에서 추천된 종이기 때문에 선정하였다.

③ 공급원

- 명칭 : ㈜한국생물안전성연구소 GLP연구동, 송사리 사육실

- 소재지 : 충북 음성군 감곡면 성주로 362-20

- 연락처 : Tel : 043-882-0297, Fax : 043-882-0298

④ 입수일 : 2017년 08월 07일

⑤ 사육

- 사육장소 : GLP 연구동 송사리 사육실

- 사육온도 : 21.0~25.0℃

- 광조건 : 조명 16시간, 암 8시간

- 먹이급이 : 일 1회 이상 또는 주 3회 이상 Tetra Min (제일 사료)과 *Artemia*를 공급

(다) 시험방법

① 순화

- 순화장소 : GLP 연구동 어독성실험실

- 사용수조 : 시험어류의 단위체중 1 g 당 시험용수의 양이 1 L가 넘도록 24 L 용량의 수조를 사용하였다.

- 순화환경 : 순화기간동안 시험조건과 동일한 수온에서 유지되도록 하였으며, 순화중인 사육수의 용존산소량을 포화농도의 80% 이상으로 유지하기 위하여 연속폭기로 산소공급을 실시하였다.

- 순화온도 : 21.0~25.0℃

- 광조건 : 조명 16시간, 암 8시간

- 마리수 및 기간 : 독성시험에 필요한 마리수의 110%이상률 시험시작 전 7일 이상 순화하였다.

- 먹이급이 : 사육시 공급한 사료를 1일 1회 급이하였고, 시험시작 24시간 이전부터 절식하였다.

② 시험농도 및 노출 마리 수

기초시험 결과 기초시험농도인 10.0 mg/L에서 치사 개체가 관찰되지 않아 10.0 mg/L 단일농도로 재시험을 실시하였으며, 송사리 10마리를 노출시켰다. 대조군은 무처리한 시험용수를 음성대조군으로 하여 시험군과 동일하게 10마리를 노출시켰다.

③ 시험물질의 조제

시험물질 0.114 g을 칭량하여 5 L의 시험용수에 직접 처리한 후 충분히 교반하여 10.0 mg/L의 시험용액을 조제하였다.

④ 시험물질 적용방법

- 사용수조 : 6 L 용량의 시험용 수조 (원통형 유리제)
- 노출기간 : 시험물질 노출 후 96시간
- 시험용수 : 지하수를 전처리필터 (1.0 μm)와 중간필터 (0.5 μm) 또한 세균제거필터 (0.1 μm)로 정수된 지하수로 1주 이상 연속폭기하며 정제하여 사용하였다. 수온은 순화온도와 동일한 범위 (21.0~25.0 $^{\circ}\text{C}$)내로 유지하되 시험기간 중 수온의 변화는 $\pm 1^{\circ}\text{C}$ 이상 변화되지 않도록 하였다. 또한 시험용수의 용존산소량은 최소한 포화농도 60%를 유지하도록 하였다.

⑤ 시험 대조군

- 음성대조군 : 시험용수인 지하수로 음성대조군시험을 실시하였다.
- 양성대조군 : Potassium dichromate (Sigma-Aldrich, Lot.-MKBZ3208V)를 양성대조물질로 하여 100.000, 149.535, 223.607, 334.370 및 500.000 mg/L (공비 1.495)로 시험한 GLP 급성어류독성시험 (17-KET-PO002)결과를 적용하였다 (2017.08.28~2017.09.29).

(2) 관찰 및 측정 [Observation and Determination]

(가) 관찰

시험생물 투입 후 3시간 및 24시간 간격으로 96시간까지 관찰을 실시하였다. 관찰 시 형태이상, 유영이상, 출혈 등의 중독증상과 치사 개체수를 관찰하였고, 치사어의 판정은 시험생물을 유리막대로 건드렸을 때 움직임이 없거나 아가미 호흡이 중단된 경우 치사로 판정하였다.

(나) 수질측정

수온과 pH 및 DO는 시험물질 처리후 시험생물 노출기간동안 1일 1회 Orion 4 star 모델로 측정하였다. 경도는 시험생물 노출 전 음성대조군에서 시험용수를 취하여 측정하였다.

(다) 전장 및 체중 측정

시험종료 후 음성대조군 및 시험물질 처리군 전 개체의 전장 및 체중을 측정하였다.

(라) 시험결과의 표시 및 통계처리방법

시험물질 투여 후 경과시간별 누적치사율을 사용하여 결과를 나타냈으며, 기초시험 (10.0 mg/L)에서 시험이 종료되어 통계처리는 하지 않았다.

(3) 시험결과 [Results]

(가) 치사개체 및 이상증상

노출기간 96시간동안, 음성대조군 및 시험물질 처리군인 10.0 mg/L 농도군에서 치사 및 어떠한 중독증상도 관찰되지 않았다.

(나) 시험환경조건

시험기간 동안 수온은 평균 22.9℃ (22.8~23.0℃), pH는 평균 7.41 (6.93~7.95), 용존산소농도는 포화용존산소량 대비 평균 84.4% (73.2~99.5%)로 측정되었다. 또한, 사용한 시험용수의 경도는 73 mg CaCO₃/L로 측정되었다.

(다) 전장 및 체중

노출종료 후 음성대조군과 시험물질 처리군 시험어의 전장 및 체중을 측정한 결과, 전장은 평균 2.28 cm (2.01~2.55 cm), 체중은 평균 0.11 g (0.07~0.14 g)으로 측정되었다.

(라) 급성독성시험결과

황금오일의 담수어류 (송사리, *Oryzias latipes*)에 대한 48, 96시간 반수치사농도 (LC₅₀)는 모두 10.0 mg/L 이상이었고, 무영향농도 (NOEC)는 모두 10.0 mg/L이었다. 이 결과는 농약관리법에 의거 독성을 구분하면 III급으로 분류되었다.

4. 시제품의 성능시험

가. 감귤 귤응애 억제방제 효과시험

(1) 시험방법

(가) 농촌진흥청 고시‘농약의 등록기준 약효 및 약해 시험기준과 방법’에 준함.

(나) 대상해충 : 귤응애(*Panonychus citri*)

(다) 시험작물(품종) : 감귤(홍진조생)

(라) 대상해충 발생상황 : 감귤 귤응애의 억제처리 전 무처리 평균 밀도가 78.0마리로 약효를 검정하기에 충분하였음.

(마) 처리내용

| 시 험 약 제 | 주원료 투입량 (%) | 약 효 시 험 | | 의뢰 회사 |
|---------|--------------------------------|------------|---------------------------------|-------|
| | | 희석배수 및 사용량 | 처리시기 및 방법 | |
| 황금오일 | 황 25 +파라핀오일 15 +데리스추출물 4 | 250배 | 한일당 2~3마리 발생시 경엽처리 (5/30) | 팜프랜드 |
| 무 처 리 | - | - | - | - |

(바) 경종개요 : 노지재배. 개심자연형. 25년생. 재식거리 5×4m. 시험기간 동안 시험약제 외 타 살균제는 처리하지 않았음.

(사) 시험구배치 및 면적: 완전임의배치법 3반복

| 구 분 | 처 리 수 | 반 복 수 | 총 구 수 | 구당주수 | 소요주수 | 총소요주수 |
|-----|-------|-------|-------|------|------|-------|
| 약 효 | 2 | 3 | 6 | 1주 | 6주 | 6주 |

(아) 약제살포 전후 기상상황: 약효·약해에 영향을 미칠만한 기상변화는 없었음.

출처: 제주특별자치도 제주유인관서

| 월/일 | 강수량(mm) | 최고/최저 기온(℃) | 평균기온(℃) |
|-------|---------|-------------|---------|
| 5/30* | - | 26.8 / 19.4 | 22.6 |
| 5/31 | - | 26.3 / 18.5 | 21.9 |

* : 약제살포일

(2) 조사방법

| 구 분 | 조사항목 | 조사횟수 | 조사일자 | 조 사 방 법 |
|------|------|------|-----------------|--|
| 약효시험 | 생충률 | 3회 | 5/30, 6/6, 6/13 | 약제처리 전 및 약제처리 7, 14일 후 구당 30엽에 대한 생충수 조사 |

(3) 시험성적

(가) 약효시험

① 감귤 곁응애에 대한 약제방제 효과(약제처리 후 7일차)

| 시험약제 | 약제처리전 밀도(마리) | 생충률(%) | | | | 유의차 (DMRT) | 방제가 (%) |
|-------|-----------------|--------|-------|--------|-------|---------------|------------|
| | | I 반복 | II 반복 | III 반복 | 평 균 | | |
| 황금오일 | 80.0 | 21.5 | 27.3 | 16.7 | 21.8 | b | 85.6 |
| 무 처 리 | 78.0 | 144.4 | 154.1 | 155.7 | 151.4 | a | - |

C.V.(%) ----- (6.6)

② 감귤 곁응애에 대한 약제방제 효과(약제처리 후 14일차)

| 시험약제 | 약제처리전 밀도(마리) | 생충률(%) | | | | 유의차 (DMRT) | 방제가 (%) |
|-------|-----------------|--------|-------|--------|-------|---------------|------------|
| | | I 반복 | II 반복 | III 반복 | 평 균 | | |
| 황금오일 | 80.0 | 38.0 | 46.8 | 32.1 | 39.0 | b | 81.8 |
| 무 처 리 | 78.0 | 198.8 | 228.4 | 216.5 | 214.6 | a | |

C.V.(%) ----- (9.3)

(4) 결과요약

시험 의뢰된 유기농업자재는 방제가 81.8% 이상의 방제효과를 보였음.



시험포장 전경



약제살포 전경



꿀응애

나. 복숭아 뽕나무깍지벌레 약제방제 효과시험

(1) 시험방법

(가) 농촌진흥청 고시‘농약의 등록기준 약효 및 약해 시험기준과 방법’에 준함.

(나) 대상해충 : 뽕나무깍지벌레(*Pseudaulacaspis pentagona*)

(다) 시험작물(품종) : 복숭아(썬골드)

(라) 대상해충 발생상황 : 복숭아 뽕나무깍지벌레의 약제처리 전 무처리 평균 밀도가 116.7마리로 약효를 검정하기에 충분하였음.

(마) 처리내용

| 시 험 약 제 | 주원료 투입량 (%) | 약 효 시 험 | | 의뢰 회사 |
|---------|--------------------------------|------------|------------------|-------|
| | | 희석배수 및 사용량 | 처리시기 및 방법 | |
| 황금오일 | 황 25 +파라핀오일 15 +테리스추출물 4 | 250배 | 다발생기 경엽처리 (8/11) | 팜프랜드 |
| 무 처 리 | - | - | - | - |

(바) 경종개요 : 노지재배. 개심자연형. 10년생. 재식거리 4×3m. 실험기간 동안에 타 살충제는 살포하지 않았음.

(사) 시험구배치 및 면적 : 완전임의배치법 3반복

| 구 분 | 처 리 수 | 반 복 수 | 총 구 수 | 구당주수 | 소요주수 | 총소요주수 |
|-----|-------|-------|-------|------|------|-------|
| 약 효 | 2 | 3 | 6 | 1주 | 6주 | 6주 |

(아) 약제살포 전후 기상상황 : 약효·약해에 영향을 미칠만한 기상변화는 없었음.

출처: 경기도 이천무인관서

| 월/일 | 강수량(mm) | 최고/최저 기온(℃) | 평균기온(℃) |
|-------|---------|-------------|---------|
| 8/11* | - | 31.9 / 22.5 | 25.8 |
| 8/12 | - | 32.0 / 19.8 | 25.4 |

* : 약제살포일

(2) 조사방법

| 구 분 | 조 사 항 목 | 조사횟수 | 조사일자 | 조 사 방 법 |
|------|---------|------|------------|--|
| 약효시험 | 생충률 | 2회 | 8/11, 8/31 | 약제처리 전 및 약제처리 20일 후 구당 5가지에 대한 생충수 조사 |

(3) 시험성적

(가) 약효시험

복숭아 뽕나무깍지벌레에 대한 약제방제 효과(약제처리 후 20일차)

| 시험약제 | 약제처리전 밀도(마리) | 생충률(%) | | | | 유의차 (DMRT) | 방제가 (%) |
|-------|-----------------|--------|-------|--------|-------|---------------|------------|
| | | I 반복 | II 반복 | III 반복 | 평 균 | | |
| 황금오일 | 112.3 | 16.4 | 19.5 | 6.4 | 14.1 | b | 86.8 |
| 무 처 리 | 116.7 | 104.2 | 106.2 | 110.7 | 107.0 | a | - |

C.V.(%) ----- (8.9)

(4) 결과요약

시험 의뢰된 유기농업자재는 방제가 86.8%로 우수한 방제효과를 보였음.



시험포장 전경



약제살포 전경



뽕나무각지벌레

다. 감귤 더뎡이병 약제방제 효과시험

(1) 시험방법

(가) 농촌진흥청 고시 “농약의 등록기준 약효 및 약해 시험기준과 방법”에 준함

(나) 대상병해 : 더뎡이병(*Elsinoe fawcettii*)

(다) 시험작물(품종) : 감귤(궁천조생)

(라) 대상병해 발생상황 : 감귤 더뎡이병의 무처리 평균 이병엽률 14.5%로 약효를 검토하기에 충분하였음.

(마) 처리내용

| 시험약제 | 주원료 투입량(%) | 약 효 시 험 | | 의뢰 회사 |
|-------|--------------------------------|------------|--|-------|
| | | 희석배수 및 사용량 | 처리시기 및 방법 | |
| 황금오일 | 황 25 +파라핀오일 15 +테리스추출물 4 | 250배 | 춘지발생초 15일간격 4회 경엽처리 (4/19, 5/4, 5/19, 6/3) | 팜프랜드 |
| 무 처 리 | - | - | - | - |

(바) 경종개요: 노지재배. 개심자연형. 26년생. 재식거리 5×4m. 시험기간 동안 시험약제 외 타 살균제는 처리하지 않았음.

(사) 시험구배치 및 면적: 완전임의배치법 3반복

| 구 분 | 처리수 | 반복수 | 총구수 | 구당주수 | 소요주수 | 총소요주수 |
|-----|-----|-----|-----|------|------|-------|
| 약 효 | 2 | 3 | 6 | 1주 | 6주 | 6주 |

(아) 약제살포 전후 기상상황: 5월 4일 약제처리시 시험포장에 강우는 없었음. 약효·약해에 영향을 미칠만한 기상변화는 없었음.

출처: 제주도 서귀포기상대

| 월/일 | 강수량(mm) | 평균기온(℃) | 최고/최저 기온(℃) |
|-------|---------|---------|-------------|
| 4/19* | - | 15.8 | 20.7 / 12.1 |
| 4/20 | 0.0 | 15.6 | 17.5 / 12.7 |
| 5/4* | 9.8 | 19.9 | 23.0 / 17.5 |
| 5/5 | 10.0 | 17.9 | 19.5 / 16.1 |
| 5/19* | - | 19.9 | 23.6 / 16.2 |
| 5/20 | - | 20.1 | 24.1 / 16.7 |
| 6/3* | - | 21.0 | 23.6 / 18.2 |
| 6/4 | - | 21.5 | 26.4 / 17.5 |

* 약제살포일

(2) 조사방법

| 구 분 | 조 사 항 목 | 조사횟수 | 조사일자 | 조 사 방 법 |
|-----|---------|------|------|----------------------------------|
| 약 효 | 이병엽률 | 1회 | 6/18 | 최종약제처리 15일 후 구당 200엽에 대한 이병엽률 조사 |

(3) 시험성적

(가) 약효시험

감귤 더듬이병에 대한 약제방제 효과(최종약제처리 후 15일차)

| 시험약제 | 이병엽률(%) | | | | 유의차 (DMRT) | 방제가 (%) |
|-------|---------|-------|--------|------|---------------|------------|
| | I 반복 | II 반복 | III 반복 | 평 균 | | |
| 황금오일 | 6.0 | 6.5 | 8.0 | 6.8 | b | 53.1 |
| 무 처 리 | 14.0 | 16.5 | 13.0 | 14.5 | a | - |

C.V.(%) ----- (15.7)

(4) 결과요약

시험 의뢰된 유기농업자재 황금오일의 방제가는 각각 53.1%의 방제효과를 보였음.



시험포장 전경



약제살포 전경



병징

라. 감귤 궤양병 약제방제 효과시험

(1) 시험방법

(가) 농촌진흥청 고시 “농약의 등록기준 약효 및 약해 시험기준과 방법”에 준함

(나) 대상병해 : 궤양병(*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*)

(다) 시험작물(품종) : 감귤(궁천조생)

(라) 대상병해 발생상황 : 감귤 궤양병의 무처리 평균 이병엽률 17.8%로 약효를 검토하기에 충분하였음.

(마) 처리내용

| 시험약제 | 주원료 투입량(%) | 약 효 시 험 | | 의뢰 회사 |
|-------|--------------------------------|------------|--|-------|
| | | 희석배수 및 사용량 | 처리시기 및 방법 | |
| 황금오일 | 황 25 +과라핀오일 15 +데리스추출물 4 | 250배 | 새순굴기전 15일간격 4회 경엽처리 (6/5, 6/21, 7/5, 7/20) | 팜프랜드 |
| 무 처 리 | - | - | - | - |

(바) 경종개요: 노지재배. 개심자연형. 26년생. 재식거리 5×4m. 시험기간 동안 시험 약제 외 타 살균제는 처리하지 않았음.

(사) 시험구배치 및 면적: 완전임의배치법 3반복

| 구 분 | 처리수 | 반복수 | 총구수 | 구당주수 | 소요주수 | 총소요주수 |
|-----|-----|-----|-----|------|------|-------|
| 약 효 | 2 | 3 | 6 | 1주 | 6주 | 6주 |

(아) 약제살포 전후 기상상황 : 6월 20일 지속적인 강우로 인하여 6월 21로 약제 처리 하였으며, 7월 5일 약제처리시 시험포장에 강우는 없었음. 약효·약해에 영향을 미칠만한 기상변화는 없었음.

출처: 제주도 서귀포기상대

| 월/일 | 강수량(mm) | 평균기온(℃) | 최고/최저 기온(℃) |
|-------|---------|---------|-------------|
| 6/5* | - | 21.9 | 26.0 / 18.3 |
| 6/6 | 141.9 | 20.0 | 21.0 / 18.2 |
| 6/20 | 29.7 | 22.7 | 24.1 / 20.2 |
| 6/21* | - | 22.7 | 27.1 / 19.9 |
| 6/22 | - | 22.7 | 26.0 / 20.4 |
| 7/5* | 0.0 | 26.8 | 28.8 / 25.1 |
| 7/6 | 0.0 | 26.6 | 28.4 / 25.7 |
| 7/20* | - | 29.2 | 32.2 / 26.3 |
| 7/21 | - | 29.0 | 31.5 / 27.2 |

* : 약제살포일

(2) 조사방법

| 구 분 | 조 사 항 목 | 조사횟수 | 조사일자 | 조 사 방 법 |
|------|---------|------|------|----------------------------------|
| 약효시험 | 이병엽률 | 1회 | 8/4 | 최종약제처리 15일 후 구당 200엽에 대한 이병엽률 조사 |

(3) 시험성적

(가) 약효시험

감귤 궤양병에 대한 약제방제 효과(최종약제처리 후 15일차)

| 시험약제 | 이병엽률(%) | | | | 유의차 (DMRT) | 방제가 (%) |
|-------|---------|-------|--------|------|---------------|------------|
| | I 반복 | II 반복 | III 반복 | 평 균 | | |
| 황금오일 | 6.5 | 9.5 | 8.5 | 8.2 | b | 53.9 |
| 무 처 리 | 18.0 | 18.5 | 17.0 | 17.8 | a | - |

C.V.(%) ----- (9.4)

(4) 결과요약

시험 의뢰된 유기농업자재 황금오일의 방제가는 각각 53.9%의 방제효과를 보였음.



시험포장 전경



약제살포 전경



병징

마. 배 약해시험

(1) 시험방법

(가) 시험약제 : 황금오일

(나) 시험작물(품종) : 배(신고)

(다) 처리내용

| 시험약제 | 원료투입율(%) | 약해시험 | | | 의뢰회사 |
|------|------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|------|
| | | 희석배수 및 사용량 | | 처리시기 및 방법 | |
| | | 기준량 | 배량 | | |
| 황금오일 | 황 25 파라핀오일 15 데리스추출물 4 | 250배 (80ml/20ℓ) | 125배 (160ml/20ℓ) | 월동후 경엽처리 (3/30) | 팜프랜드 |
| 무 처리 | - | - | - | - | - |

(라) 경중개요

- 시험약제는 6년생 배(신고)에 월동 후 경엽처리 하였음(3/30).
- 재식거리는 4×4m, 재배양식은 개심자연형, 기타 재배관리는 농가관행에 준하였음.

(마) 시험구 배치 및 면적 : 완전임의배치법 3반복

| 구 분 | 처리수 | 반복수 | 총주수 | 구당주 | 소요주수 |
|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| 약해 | 3 | 3 | 9 | 1주 | 9주 |

(2) 조사 방법

| 조사항목 | 조사횟수 | 조사일자 | 조사방법 |
|------|------|-------------|--------------------------------------|
| 약해유무 | 3 | 4/6, 13, 20 | 약제처리 7, 14, 21일 후 외관상 나타나는 약해유무 달관조사 |

(3) 시험성적(약제처리 7, 14, 21일 후)

| 시험약제 | 시험작물 (품종) | 약해정도(0~5) | | 비고 |
|------|--------------|-----------|----|------|
| | | 기준량 | 배량 | |
| 황금오일 | 배 (신고) | 0 | 0 | 약해없음 |

(4) 결과 요약

황금오일의 배에 대한 약해시험 결과 기준량 및 배량에서 외관상 나타난 약해증상은 없었음.

바. 복숭아 약해시험

(1) 시험방법

(가) 시험약제 : 황금오일

(나) 시험작물(품종) : 복숭아(그레이트)

(다) 처리내용

| 시험약제 | 원료투입율(%) | 약해시험 | | | 의뢰회사 |
|------|------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|------|
| | | 희석배수 및 사용량 | | 처리시기 및 방법 | |
| | | 기준량 | 배량 | | |
| 황금오일 | 황 25 파라핀오일 15 테리스추출물 4 | 250배 (80ml/20ℓ) | 125배 (160ml/20ℓ) | 월동후 경엽처리 (3/30) | 팜프랜드 |
| 무 처리 | - | - | - | - | - |

(라) 경종개요

- 시험약제는 10년생 복숭아(그레이트)에 월동 후 경엽처리 하였음(3/30).
- 재식거리는 5×4m, 재배양식은 개심자연형, 기타 재배관리는 농가관행에 준하였음.

(마) 시험구 배치 및 면적 : 완전임의배치법 3반복

| 구 분 | 처리수 | 반복수 | 총주수 | 구당주 | 소요주수 |
|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| 약해 | 3 | 3 | 9 | 1주 | 9주 |

(2) 조사 방법

| 조사항목 | 조사횟수 | 조사일자 | 조사방법 |
|------|------|-------------|--------------------------------------|
| 약해유무 | 3 | 4/6, 13, 20 | 약제처리 7, 14, 21일 후 외관상 나타나는 약해유무 달관조사 |

(3) 시험성적(약제처리 7, 14, 21일 후)

| 시험약제 | 시험작물 (품종) | 약해정도(0~5) | | 비고 |
|------|---------------|-----------|----|------|
| | | 기준량 | 배량 | |
| 황금오일 | 복숭아 (그레이트) | 0 | 0 | 약해없음 |

(4) 결과 요약

황금오일의 복숭아에 대한 약해시험 결과 기준량 및 배량에서 외관상 나타난 약해증상은 없었음.

사. 사과 약해시험

(1) 시험방법

(가) 시험약제 : 황금오일

(나) 시험작물(품종) : 사과(후지)

(다) 처리내용

| 시험약제 | 원료투입율(%) | 약해시험 | | | 의뢰회사 |
|------|------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|------|
| | | 희석배수 및 사용량 | | 처리시기 및 방법 | |
| | | 기준량 | 배량 | | |
| 황금오일 | 황 25 파라핀오일 15 테리스추출물 4 | 250배 (80ml/20ℓ) | 125배 (160ml/20ℓ) | 월동후 경엽처리 (3/30) | 팜프랜드 |
| 무 처리 | - | - | - | | - |

(라) 경종개요

- 시험약제는 6년생 사과(후지)에 월동 후 경엽처리 하였음(3/30).

- 재식거리는 5×3m, 재배양식은 방추형, 기타 재배관리는 농가관행에 준하였음.

(마) 시험구 배치 및 면적 : 완전임의배치법 3반복

| | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|------|
| 구 분 | 처리수 | 반복수 | 총주수 | 구당주 | 소요주수 |
| 약해 | 3 | 3 | 9 | 1주 | 9주 |

(2) 조사 방법

| | | | |
|------|------|-------------|--------------------------------------|
| 조사항목 | 조사횟수 | 조사일자 | 조사방법 |
| 약해유무 | 3 | 4/6, 13, 20 | 약제처리 7, 14, 21일 후 외관상 나타나는 약해유무 달관조사 |

(3) 시험성적(약제처리 7, 14, 21일 후)

| 시험약제 | 시험작물 (품종) | 약해정도(0~5) | | 비고 |
|------|--------------|-----------|----|------|
| | | 기준량 | 배량 | |
| 황금오일 | 사과 (후지) | 0 | 0 | 약해없음 |

(4) 결과 요약

황금오일의 사과에 대한 약해시험 결과 기준량 및 배량에서 외관상 나타난 약해 증상은 없었음.

아. 오미자 약해시험

(1) 시험방법

(가) 시험약제 : 황금오일

(나) 시험작물(품종) : 오미자(재래종)

(다) 처리내용

| 시험약제 | 원료투입율(%) | 약해시험 | | | 의뢰회사 |
|------|------------------------------|--------------------|---------------------|--------------------|------|
| | | 희석배수 및 사용량 | | 처리시기 및 방법 | |
| | | 기준량 | 배량 | | |
| 황금오일 | 황 25 파라핀오일 15 테리스추출물 4 | 250배 (80ml/20ℓ) | 125배 (160ml/20ℓ) | 월동후 경엽처리 (3/30) | 팜프랜드 |
| 무 처리 | - | - | - | - | - |

(라) 경중개요

- 시험약제는 8년생 오미자(재래종)에 월동 후 경엽처리 하였음(3/30).
- 재식거리는 250×30cm, 재배양식은 터널형, 기타 재배관리는 농가관행에 준하였음.

(마) 시험구 배치 및 면적 : 완전임의배치법 3반복

| 구 분 | 처리수 | 반복수 | 총구수 | 구당면적 | 소요면적 |
|-----|-----|-----|-----|------------------|------------------|
| 약해 | 3 | 3 | 9 | 10m ² | 90m ² |

(2) 조사 방법

| 조사항목 | 조사횟수 | 조사일자 | 조사방법 |
|------|------|-------------|--------------------------------------|
| 약해유무 | 3 | 4/6, 13, 20 | 약제처리 7, 14, 21일 후 외관상 나타나는 약해유무 달관조사 |

(3) 시험성적(약제처리 7, 14, 21일 후)

| 시험약제 | 시험작물 (품종) | 약해정도(0~5) | | 비고 |
|------|--------------|-----------|----|------|
| | | 기준량 | 배량 | |
| 황금오일 | 오미자 (재래종) | 0 | 0 | 약해없음 |

(4) 결과요약

황금오일의 오미자에 대한 약해시험 결과 기준량 및 배량에서 외관상 나타난 약해 증상은 없었음.

자. 감귤 약해시험

(1) 시험방법

(가) 농촌진흥청 고시'농약의 등록기준 약효 및 약해 시험기준과 방법'에 준함.

(나) 시험약제 : 황금오일

(다) 시험작물(품종): 감귤(홍진조생)

(라) 처리내용

| 시 험 약 제 | 주원료 투입량 (%) | 약 해 시 험 | | | 의뢰회사 |
|---------|----------------------------|---------|------|------------|------|
| | | 기준량 | 배 량 | 처리방법 | |
| 황금오일 | 황 25+파라핀오일 15 +테리스추출물 4 | 250배 | 125배 | 경엽처리 (6/2) | 팜프렌드 |
| 무 처 리 | - | - | - | | - |

(마) 경종개요 : 노지재배. 개심자연형. 25년생. 재식거리 5×4m. 시험기간 동안 시험약제 외 타 살균제는 처리하지 않았음.

(바) 시험구배치 및 면적 : 완전임의배치법 3반복

| 구 분 | 처 리 수 | 반 복 수 | 총 구 수 | 구당주수 | 소요주수 | 총소요주수 |
|-----|-------|-------|-------|------|------|-------|
| 약 해 | 3 | 3 | 9 | 1/3주 | 3주 | 3주 |

(사) 약제살포 전후 기상상황: 약효·약해에 영향을 미칠만한 기상변화는 없었음.

출처: 제주특별자치도 제주유인관서

| 월/일 | 강수량(mm) | 최고/최저 기온(℃) | 평균기온(℃) |
|------|---------|-------------|---------|
| 6/2* | - | 25.6 / 17.2 | 20.2 |
| 6/3 | - | 24.1 / 17.5 | 20.4 |

* : 약제살포일

(2) 조사 방법

| 구 분 | 조사항목 | 조사횟수 | 조사일자 | 조사방법 |
|------|------|------|---------------|---------------------------------------|
| 약해시험 | 약해유무 | 3회 | 6/5, 6/7, 6/9 | 약제처리 3, 5, 7일 후 외관상 나타나는 약해유무 3회 달관조사 |

(3) 시험성적(약제처리 3, 5, 7일 후)

| 시험약제 | 시험작물 (품종) | 약해정도(0~5) | | 비고 |
|------|--------------|-----------|----|------|
| | | 기준량 | 배량 | |
| 황금오일 | 감귤 (홍진조생) | 0 | 0 | 약해없음 |

(4) 결과요약

시험 의뢰된 유기농업자재 황금오일은 감귤에 대하여 기준량, 배량에서 외관상 나타난 약해증상은 없었음.

5. 제품화

가. 대량생산 공정 구축

(1) 원료 확보

(가) 황

- ① 생산지 : 필리핀
- ② 제조사 : 삼우화학

(나) 파라핀오일

- ① 생산지 : 국내
- ② 제조사 : (주)극동유화

(다) 테리스추출물

- ① 생산지 : 중국
- ② 제조사 : BEIJING KINGBO BIOTECH CO., LTD

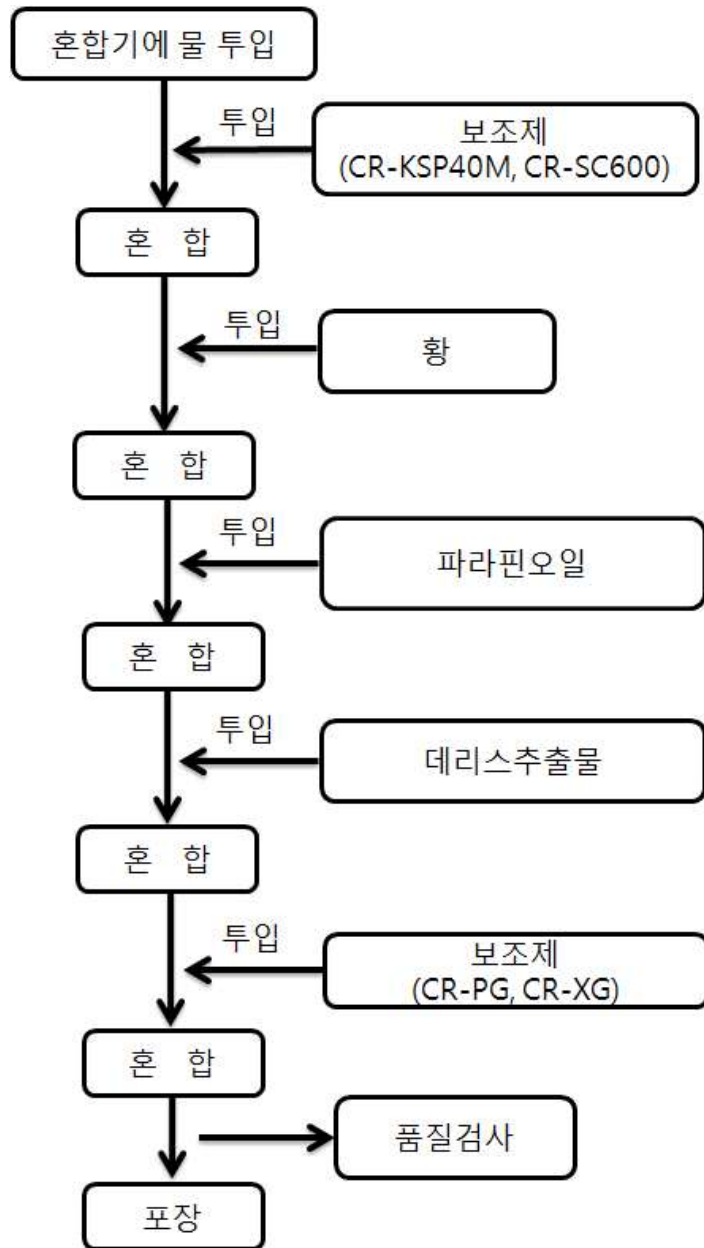
(라) 보조제

- ① 생산지 : 국내
- ② 제조사 : (주)유성화연테크

(2) 제조공정

1톤 교반혼합기에 물을 넣고 보조제 KSP40M과 SC600을 넣고 교반한 다음, 황과 파라핀오일, 테리스추출물을 차례로 투입하고 충분히 교반한다. 여기에 보조제 PG에 XG를 넣은 혼합액을 투입하여 12시간 이상 교반하고 물성을 검사한 후 병에

주입하여 포장한다.



(3) 품질관리

(가) 원료 품질관리

- ① 황 : 제조사의 제품성적서로 품질 확인

유효성분은 황을 분석 - 연간 최소 1회 이상

- ② 파라핀오일 : 제조사의 품질보증서로 품질 확인
유효성분은 파라핀오일 분석 - 연간 1회이상 실시
- ③ 데리스추출물 : 제조사의 제품성적서 품질 확인
유효성분은 로테논 분석 - 연간 1회이상 실시
농약다성분 분석 - 신규 수입물품
- ④ 보조제 : 제조사의 제품성적서로 품질 확인

(나) 제품 품질관리

- ① 유효성분 : 황, 파라핀오일, 로테논 - 농업기술실용화재단에 의뢰하여 연간 1회이상 실시
- ② 농약다성분 : 농약 360종에 대한 성분 검사 - 시험인증기관에 의뢰하여 연간 1회이상 실시
- ③ 물성검사 : 색상, 비중 등 - 제품생산시 자체 검사

나. 유기농업자재 공시

본 연구개발의 결과물인 시제품의 상표를 “황금오일”로 명명하고 시제품의 생산계획서, 원료의 특성에 관한 자료, 제조공정 및 품질관리에 관한 자료, 원가계산서, 원료공급증명서와 본 연구개발 수행으로 확보된 유효성분 및 유해성분 분석성적서, 시제품의 인축·환경독성 시험성적서, 시제품의 약효·약해 시험성적서를 준비하여 농업기술실용화재단에 병해충관리용 유기농업자재로 공시를 신청하여 2018년 3월 29일자로 공시서를 교부받았다.

제 3 절 연구개발 성과

1. 제품화 : 유기농업자재 공시 1건

- 자재의 명칭 : 데리스추출물+파라핀오일+황
- 자재의 구분 : 병해충관리용
- 상표명 : 황금오일
- 공시번호 : 공시-1-6-029 호
- 유효기간 : 2018. 3. 29 ~ 2021. 3. 28
- 공시기관 : 농업기술실용화재단
- 유기농업자재 공시서

○ 제품사진



2. 홍보 전시 : 1건

○ 전시 개요

| | | |
|-------------------------|-------------------|--------------|
| 시 작 일: 2017.11.01 | 종 료 일: 2017.11.03 | |
| 행 사 명 칭: 제12회 대전국제농업기술전 | 참 가 자: 팜프랜드 | 참여품목: 유기농업자재 |
| 주 관 기 관: KOTRA | 국 내 외: 국내 | |

○ 전시 사진



○ 제품홍보물

팜프랜드
작물 병해관리용

황금오일

기계유 및 석회유황합제 대체제
월동기 방제제

주성분 : 파라핀오일, 황, 식물추출물



친환경
제품

안전한
원료

편리한
사용

3. 사업화 계획 및 매출실적

가. 사업화 성과

| 항목 | 세부항목 | | | 성 과 |
|-----------|-------------------|---------------------|-----------|----------------------|
| 사업화 성과 | 매출액 | 개발제품 | 개발후 현재까지 | 0.2억원 |
| | | | 향후 3년간 매출 | 3억원 |
| | | 관련제품 | 개발후 현재까지 | 억원 |
| | | | 향후 3년간 매출 | 억원 |
| | 시장 점유율 | 개발제품 | 개발후 현재까지 | 국내 : 0.2 % 국외 : % |
| | | | 향후 3년간 매출 | 국내 : 3 % 국외 : % |
| | | 관련제품 | 개발후 현재까지 | 국내 : % 국외 : % |
| | | | 향후 3년간 매출 | 국내 : % 국외 : % |
| | 세계시장 경쟁력 순위 | 현재 제품 세계시장 경쟁력 순위 | | 위 |
| | | 3년 후 제품 세계 시장경쟁력 순위 | | 위 |

나. 사업화계획 및 매출실적

| 항 목 | 세부 항목 | 성 과 | | | |
|----------------|--------------------------------------|--|------|-----|-----|
| 사업화 계획 | 사업화 소요기간(년) | 2년 | | | |
| | 소요예산(백만원) | 50 | | | |
| | 예상 매출규모 (억원) | 현재까지 | 3년후 | 5년후 | |
| | | 0.2 | 3 | 7.5 | |
| | 시장 점유율 | 단위(%) | 현재까지 | 3년후 | 5년후 |
| | | 국내 | 0.2 | 3 | 5 |
| 국외 | | | | | |
| | 향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획 | 본 연구개발로 확보한 현탁제 제제기술을 활용하여 유 기농업자재를 개발할 계획임 | | | |
| 무역 수지 개선 효과 | (단위: 억원) | 현재 | 3년후 | 5년후 | |
| | 수입대체(내수) | | | | |
| | 수 출 | | | | |

제 3 장 목표 달성도 및 관련 분야 기여도

제 1 절 목표 달성도

| 연구과제명 | 연구목표 | 연구개발 수행내용 | 달성도(%) |
|---|-------------------|--|--------|
| 과수 월동기 병해충방제용 제품화 (팜프랜드) | 제제연구 | - 기계유, 석회유황합제 대체 원료로 파라핀오일, 황과 살충활성물질인 데리스추출물을 선정 - 파라핀오일, 데리스추출물, 황을 혼합할 수 있는 보조제 4종 선발 - 제조처방을 결정하고 시제품 현탁제 제조 | 100 |
| | 제품화 | - 대량생산공정 확립 - 병해충관리용 유기농업자재 공시 : 1건 | 100 |
| 과수월동기 병해충방제용 유기농업자재 개발 ((주)한국생물안전성 연구소) | 시제품 이화학적 특성 연구 | - 유효성분으로 황, 파라핀오일, 로테논 함량 분석 - 유해성분으로 322종 농약성분 분석 | 100 |
| | 시제품 안전성 연구 | - 급성경구, 급성경피, 피부자극성, 안점막자극성 등 인축독성 4항목 시험결과 : 안전성 확인 - 어독성, 꿀벌급성독성 등 2항목에 대한 시험결과 : 안전성 확인 | 100 |
| | 시제품 성능 시험 | - 살충효과시험 : 감귤 꿀응애, 복숭아 뽕나무각지벌레 - 살균효과시험 : 감귤 더데이병, 궤양병 - 약해시험 : 사과 복숭아, 배, 감귤, 오미자 | 100 |

제 2 절 관련분야의 기술발전예의 기여도

1. 경제적 측면

가. 과수 월동기 병해충방제 살포 횟수를 3회에서 2회로 감소하여 노동력 및 연료사용량 절감 효과

나. 월동 병해충 방제비용 20% 이상 절감효과

다. 본 연구로 개발된 제품은 친환경적으로 병해충을 방제하는 기술로 화학농약의 사용량을 줄여 환경을 보호하는 효과가 있을 것으로 기대

라. 본 연구로 개발된 제품은 친환경 제품으로 농민의 건강보호에도 도움이 될 것으로 기대

마. 고품질 친환경농산물 생산으로 농민 소득증대에 기여할 것으로 기대

바. 개발 성과물의 제품판매를 통한 기업의 매출증대 효과

사. 기업의 매출 증대로 1명의 고용인력 창출 기대

2. 기술적 측면

가. 본 연구로 개발된 제제화 기술은 유기농업자재의 제제 개발에 기술적인 기여를 할 것으로 기대

나. 본 연구로 개발된 제품은 과수 월동기 병해충 방제제로 활용

다. 본 연구로 개발된 제품은 기계유와 석회황합제 사용으로 인한 문제점을 해결할 수 있을 것으로 기대

제 4 장 연구결과의 활용 계획 등

본 연구과제를 통해 과수 월동기 병해충 방제용 유기농업자재 개발을 완료하였고, 개발된 시제품은 제품명을 “황금오일”로 농업기술실용화재단에 병해충관리용 유기농업자재로 공시 신청하여 유기농업자재로 공시되었다.

본 연구과제를 통해 제품화된 황금오일은 연구기간이 충분하지 못해 월동 병해충 방제 살포 횟수, 살포간격, 수세피해 유무 및 정도에 대한 구체적인 연구가 부족하였다. 향후 주관기관과 협동연구기관이 협력하여 미진한 연구를 추가적으로 계획하여 연구를 진행할 계획이다. 또한 과수 이외의 작물에 대한 약효, 약해시험을 통해 적용분야를 확대하여 판매증진에 필요한 자료를 구축할 계획이다.

유기농업자재로 공시된 황금오일의 사업화를 위하여 원료구매처 확보를 통해 대량생산공정을 확립하고 시제품을 생산하여 전국 판매대리점, 전시회를 통해 홍보하였고 2018년 5월부터 본격적인 제품을 생산하고 있다.

생산된 제품은 현재는 친환경농산물을 생산하는 과수, 과채류 농가에 판매가 되고 있으며, 2019년 2월부터는 과수 월동 병해충방제용으로 기계유, 석회유황합제 대체 제품으로 홍보하여 판매할 계획이다.

또한 지자체 및 원예협동조합과 현장시범사업을 통해 제품의 우수성을 홍보할 계획이다.

붙임. 참고문헌

국립농산물품질관리원 고시 제 2017-33호 (2017.06.03) “유기농업자재 공시 및 품질 인증 기준”.

농촌진흥청 (2017) 농촌진흥청 고시 제2017-26호 「농약 및 원제의 등록기준」 [별표 12] 인축독성시험 기준과 방법 (2017.10.17.)

농촌진흥청 고시 제 2017-26호 (2017.10.17) “농약 및 원제의 등록기준”, [별표 13] “환경생물 독성시험 기준과 방법”, “13-1-4. 꿀벌급성독성시험”, “13-1-4-1. 꿀벌접촉 독성”.

Draize, J.H. (1959) Dermal. Assoc. Food and Drug officials, U.S. Appraisal of the Safety of Chemicals in Food, Drugs and Cosmetics. Texas State Dept. of Health, Austin, pp 46~59, Texas.

OECD Guidelines for Testing of Chemicals, No. 203 "Fish, Acute Toxicity Test (Adopted : July 17, 1992)"

OECD (2001) OECD. Guideline for testing chemicals. 423. 「Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method」 (2001.12.17)

OECD guidelines for the testing of chemicals, No. 214 "Honeybees, Acute Contact Toxicity Test (Adopted: Sep. 21, 1998)".

주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 창업벤처지원 R&D 바우처 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 창업벤처지원 R&D 바우처 사업의 연구 결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.