

120039-  
1

보안 과제( ), 일반 과제( O ) / 공개( O ), 비공개( )발간등록번호( O )  
농식품 연구성과 후속지원사업 2021년도 최종보고서

발간등록번호

11-1543000-003612-01

# 친환경 선충방제제 선철이의 제품 개선과 인증획득

2021. 07. 15.

주관연구기관 / (주)고려바이오연구소

2021

농림축산식품부  
농림식품기술기획평가원

친환경  
선충방제제  
선철이의  
제품개선과  
인증획득

농림축산식품부  
(전문기관)농림식품기술기획평가원

제출문

## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

‘친환경 선충방제제 선철이의 제품개선과 인증획득’(연구개발 기간 : 2020. 4. 20. ~ 2021. 4. 19.) 과제의 최종보고서를 제출합니다.

2021 . 7 . 15 .

주관연구기관명 : (주)고려바이오연구소 (대표자) 허 운 덕 (인)



주관연구기관책임자 : 허 운 덕

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제 18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.

보고서 요약서

과제번호	120039-1	연구기간	2020.04.20.~2020.04.19		단계구분	개발
연구사업명	단위사업명					
	사업명	농식품연구성과 후속지원사업				
연구과제명	주관과제명	친환경 선충방제제 선철이의 제품개선과 인증획득				
연구책임자	허운덕	총 연구기간 참여연구원 수	총 : 4명 내부 : 10명 외부 : 0명	총 연구개발비	정부:72,000천원 민간:28,000천원 계:100,000천원	
연구기관명 및 소속부서명	(주)고려바이오연구소 기업부설연구소					
국제공동연구	상대국명:	상대국 연구기관명:				
위탁연구	연구기관명:	연구책임자:				
연구개발성과의 보안등급 및 사유						
<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 식물추출물, 미생물 배양액, 광물질의 액상 제형화 기술 구축</li> <li>○ 식물기생성선충 방제용 생물농약 시제품의 교육용 자료 제작</li> <li>○ 살선충 효과를 가진 식물추출물과 미생물배양액, 광물질을 사용함으로써 온도편차에 따른 영향을 받지 않고 효과가 지속되며, 식물추출물과 광물질의 생육증진 효과로 인하여 1가지 제품으로 선충 방제와 작물생육 증진효과를 모두 볼 수 있는 시제품의 제품화</li> <li>○ 유기농업자재 목록공시 등록</li> </ul>					보고서 면수 : 106	

## &lt; 요약 문 &gt;

사업명		농식품연구성과 후속지원사업		총괄연구개발 식별번호			
내역사업명 (해당 시 작성)				연구개발과제번호		120039-1	
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LB0304	70%	LB0508	30%		%
	농림식품 과학기술분류	RA0203	80%	RA0305	20%		%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)							
연구개발과제명		친환경 선충방제제 선철이의 제품개선과 인증획득					
전체 연구개발기간		2020. 04. 20 - 2021. 04. 19( 1년 개월)					
총 연구개발비		총 100,000 천원 (정부지원연구개발비: 72,000 천원, 기관부담연구개발비 : 28,000 천원, 지방자치단체: 천원, 그 외 지원금: 천원)					
연구개발단계		기초[ ] 응용[ ] 개발[√] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[ ]		기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준( 6 ) 종료시점 목표( 9 )	
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)							
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)							
연구개발 목표 및 내용	최종 목표	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 최종목표 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 친환경 선충 방제제인 선철이의 제품 개선과 인증(유기농업 자재 목록공시)</li> </ul> </li> <li>○ 제품개선 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 규산염백토 추가로 인한 선충의 방제 효과 개선</li> <li>- 작물 생육 촉진 효과 증진 (수확량 증대 및 생육 증진)</li> <li>- 현장 포장 실증 시험</li> </ul> </li> <li>○ 시제품의 상품화 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 유기농업자재 목록공시 등록 : 총해관리용</li> <li>- 이화학분석(주성분에 대한 유효성분 함량 검사)</li> <li>- 잔류농약 검사(322가지 성분)</li> <li>- 약해 시험(5가지 작물 ex. 배추, 상추, 오이, 고추 토마토 등)</li> <li>- 독성시험 진행(급성경구, 급성경피, 피부자극성, 안점막자극성, 어독성, 꿀벌독성)</li> </ul> </li> </ul>					
	전체 내용	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 친환경 선충방제제 선철이에 규산염백토를 추가하여 제품의 방제가 편차를 개선하며 생육 증진 효과를 높이고 유기농업 자재 목록공시를 진행하여 친환경 농자재시장 진출 및 매출 증대가 기대된다.</li> <li>○ 제품개선 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 시제품의 배합 및 희석배수 시험</li> <li>- 개선된 제품의 포트 시험</li> <li>- 현장 포장 실증 시험(고추, 멜론, 오이, 토마토)</li> </ul> </li> <li>○ 외부기관 시험</li> </ul>					

		<ul style="list-style-type: none"> <li>- 선충방제가 : 수원대학교 바이오산업연구소</li> <li>- 작물재배 시험 : (주)현농</li> </ul> <p>○ 유기농업자재 목록공시 진행</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 강원대학교 친환경농산물안전성센터 <ul style="list-style-type: none"> <li>: 이화학분석(주성분)</li> <li>: 잔류농약 검사(322성분)</li> <li>: 약해 시험(5가지 작물)</li> </ul> </li> <li>- 한국 생물안전성센터 <ul style="list-style-type: none"> <li>: 독성시험(급성경구, 급성경피, 피부자극성, 안점막자극성, 어독성, 꿀벌독성)</li> </ul> </li> </ul>
--	--	--

연구개발성과	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 유기농업자재 공시 1건 : 제품화</li> <li>2. 제품 성능 시험 완료 : 기술인증 <ul style="list-style-type: none"> <li>- 선충방제가 성적서</li> <li>- 잔류농약 시험 성적서</li> <li>- 주성분 분석성적서</li> <li>- 독성시험 성적서(급성경구, 급성경피, 꿀벌독성, 안점막, 어독성, 피부자극)</li> <li>- 약해시험 성적서(당근, 상추, 오이, 토마토, 호박)</li> </ul> </li> <li>3. 선충 피해 농가 교육지도 : 교육지도</li> </ol>
--------	---

연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<p>기존 개발 제품에 규산염 백토를 추가하여 제품의 성능을 증진시키고 유기농업자재 목록공시를 진행함으로써 친환경자재 시장에 진출할 수 있어 국가 보조사업이나 농협 계통계약이 가능해져 시장 확대에 의한 매출 증대 기대. PLS 법으로 방제제 사용에 제약이 많은 일반 관행농가 시장개척이 용이해짐</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 유기농업자재 목록공시 등록 : 지속적 제품 검사 및 관리로 안전성 확보</li> <li>2. 수요처 특성에 맞춘 유통전략 구축 : 농협, 작목반, 직영대리점</li> <li>3. 유통단계 감소를 통한 농가 부담 절감 : 본사-수요처(소비자)</li> <li>4. 농업전시회 참가로 국내 홍보 활성화</li> <li>5. 집중 투입 지역별 시범포 운영으로 사용매뉴얼 교육 및 시연회</li> </ol>
---------------------	--

연구개발성과의 비공개여부 및 사유

연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설·장비	기술 요약 정보	소프트웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
								생명 정보	생물 자원		정보	실물
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호			
국문핵심어 (5개 이내)	선충		친환경방제제		마트린		바실러스		규산염백토			
영문핵심어 (5개 이내)	nematode		biopesticide		matrine		Bacillus sp.		silicate			

## 〈 목 차 〉

제 1 장 연구개발과제의 개요 .....	6
제 1 절 연구개발의 필요성 .....	6
1. 연구개발의 개요 .....	6
2. 연구개발 대상의 국내외 현황 .....	13
제 2 절 연구개발의 목표 및 내용 .....	16
1. 연구개발의 목표 및 내용 .....	16
2. 평가의 착안점 및 기준 .....	22
제 2 장 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용 .....	24
제 1 절 연구개발의 추진전략·방법 및 추진체계 .....	24
제 2 절 연구개발 내용 및 결과 .....	25
1. 제품의 개선 .....	25
2. 시제품의 성능시험 .....	28
3. 시제품의 이화학적 특성 연구 .....	48
4. 시제품 및 원료에 대한 안전성 연구 .....	54
제 3 장 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도 .....	57
제 1 절 연구개발 성과 .....	57
제 2 절 목표 달성 수준 .....	60
제 4 장 연구개발성과 및 관련 분야에 대한 기여정도 .....	61
제 1 절 기대성과 .....	61
제 2 절 파급효과 .....	63
제 5 장 연구개발성과의 관리 및 활용 계획 .....	64
※ 별첨 자료 (참고 문헌 등) .....	66

# 제 1 장 연구개발과제의 개요

## 제 1 절 연구개발의 필요성

### 1. 연구개발의 개요

토양 해충 중 선충류는 연작장해의 중요한 요인으로 인식되고 있으며 그중에서도 뿌리에 기생하여 혹을 형성하는 뿌리혹선충류는 시설재배 채소류 및 화훼류에서 가장 큰 피해를 주는 해충의 하나이다. 우리나라에서 주로 발견되는 뿌리혹 선충은 당근뿌리혹선충, 고구마뿌리혹선충, 자바뿌리혹선충, 땅콩뿌리혹선충 등이며 농작물의 뿌리에 기생하면서 흡즙을 통해 양분과 수분을 탈취하여 작물의 생육을 저하시키고 심하면 작물을 조기에 고사시키기도 하며 다른 병원균의 침입을 조장하여 시설재배지에서 재배되는 과채류 생산에서 가장 방제가 어렵고 피해가 큰 해충이다.

선충은 아주 작은 크기의 선형동물문에 속하는 동물로 몸이 실과 같은 원통형이며 크기는 1mm 부터 작은 것은 수백  $\mu\text{m}$ 인 것도 있다. 종과 개체가 아주 풍부하고 해수, 담수 및 토양 등 모든 곳에서 서식이 가능하고 분포범위가 넓어 유기물이 있는 곳이라면 대부분의 장소에서 서식이 가능하다. 생활방식이나 서식 환경에 따라 동식물에 기생하는 기생성선충, 포식력을 가지는 포식성선충, 토양이나 수중의 유기질 및 미생물 등에 의존하며 생활하는 자활성 선충으로 크게 분류할 수 있다. 특히 문제가 되는 것은 토양선충 가운데 식물기생성 선충인데 이들은 긴 구침을 가지고 있어 뿌리의 표면에 구침을 찌러 식물의 양수분을 흡즙하며 살아가고 있으며 이런 결과로 식물은 양분이 부족해지게 되고 가해 부분을 통해 타 병원균이 침입하는 2차 피해도 발생하고 있다.

뿌리혹선충은 알에서 부화된 제2령 유충이 작물의 뿌리 성장점 부근으로 침입하고 식물체 내에서 3회 탈피하여 성충이 되며 제3령, 제4령충은 구침이 없어졌다가 성충시에 다시 나타나는 특징을 가지고 있다. 뿌리혹선충은 식물의 뿌리 내에서 양분을 흡즙하면서 성장하는데 이 과정에서 선충이 분비하는 호르몬의 작용으로 기생 부위의 식물세포 수가 증가하고 비대현상이 일어나 작물의 뿌리가 혹 모양으로 변하게 된다. 선충의 뿌리 내 기생은 뿌리의 생육을 억제하게 되며 병원성 미생물의 복합감염을 촉진하여 생육이 불량해지고 과실의 수량도 감소할 뿐 아니라 결국에는 식물의 고사를 유발하게 된다.

이러한 식물기생성 토양선충에 의한 피해를 경감시키고자 토양선충을 방제하기 위하여 화학적 방법, 재배적 방법, 물리적 방법, 생물학적 방법 등 다양한 방법들이 시도되고 있다.

재배적 방법으로는 일정 기간동안 경작을 하지 않는 휴경, 경작지를 논과 밭으로 번갈아 이용하는 침수처리법, 생태 특성이 다른 여러 작물을 돌려 짓는 윤작, 재식시기의 조정, 저항성 품종의 재식, 유인식물을 재식하는 방법 등이 적용될 수 있다. 그러나, 이러한 방법들은 토지의 이용 효율이 낮고, 작목 선택에 제한이 있어 실질적으로 적용하기에는 치러야 하는 경제적인 대가가 너무 크다. 게다가 재배적 방제 방법은 피해를 완화하고 경감시키는 정도에 불과하여 근본적으로 토양

선충을 방제할 수 있는 것은 아니다.

물리적인 방제 방법으로는 태양열이나 전열선, 자외선 또는 초음파를 가하여 경작지를 살균하는 열탕소독법, 전열가온법, 자외선 조사법 및 초음파 방제법이 있다. 물리적인 방제 방법은 모두 작물을 경작하지 않는 시기를 이용하여 제한적으로 시도할 수밖에 없으며, 열탕소독법은 햇볕이 강한 하절기에만 적용이 가능하고, 다른 방제법들은 시설 및 유지 비용이 과다하게 소요되는 문제점이 있다. 또한, 토양선충의 도피 능력을 감안하면 물리적인 방제 방법은 그 효율성이 미미하다.

화학적 방제 방법은 약제를 사용하여 방제하는 것으로, 대개 아세틸콜린에스테라제의 활성을 억제하는 유기인산계열의 화합물에 의해 신경계의 신경전달물질의 일종인 아세틸콜린의 양을 증가시키는 방식으로 살충 작용을 한다. 그러나 이러한 유기인산계 살충제는 대부분 유해 물질로 규정되어 있어 사용에 제약이 있다. 선충탄입제, 에토프입제(모캡), 싸이론훈증제, 아조포유제(호스타치온), 브롬화메틸·이브롬화에틸렌·디클로로프로펜 등과 같은 화학적 약제를 사용하는 방법은 약제의 가격이 비교적 고가일 뿐만 아니라, 초기 밀도를 감소시킨 이후에는 밀도가 다시 증가하는 것으로 보고되어 있다. 더구나 최근 Aldicarb, Fenamiphos, Methyl bromide, DBCP, EDB 등이 인체 및 자연환경에 유해성이 있다고 밝혀지면서 살선충제 농약 등록이 취소된 바 있다.

화학 농약의 지속적 사용은 병해충의 저항성 문제를 유발하며, 토양선충뿐만 아니라 토양 내에서 작물과 공생관계 등을 통해 작물의 성장에 유익하거나 생태계를 유지하는 곤충이나 미생물을 사멸시키고, 염류가 집적되는 등 토양오염과 수질오염을 발생시켜 경작 자체를 곤란하게 한다. 또한 수확물에 유해한 농약이 잔류하여 소비자의 건강을 위협하거나 식품으로서의 가치가 상실되어 수확물을 출하하지 못하고 폐기하게 되는 피해가 빈번하게 발생하고 있다.

생물학적 방제법은 포식성선충이나 곤충, 세균을 이용한 방법으로 농약 살포시 야기되는 약해문제, 토양오염 및 농약잔류의 문제가 없는 장점이 있다. 그러나 이러한 생물적 방제제는 화학제제에 비하여 방제 효과가 매우 낮으며, 특히 미생물을 이용한 방제 효과는 실내검정에서는 우수한 결과를 나타내었으나 토양 적용성 문제로 인하여 방제가가 포트나 포장검정에서 감소하는 경향을 보인다. 이러한 문제점들로 인하여 아직까지는 여러 가지 단점에도 불구하고 화학농약을 가장 선호하는 경향이 있다.

뿌리혹선충은 식물 기생선충류 중에 가장 많은 경제적 손실을 주는 해충으로, 경상북도농업기술원에 따르면 참외의 경우 뿌리혹선충으로 인하여 매년 570억에 달하는 피해를 입고 있으며, 전라북도농업기술원이 조사한 바에 따르면 멜론의 경우 10%의 생산량을 감소시키고 있다.

전국 과채류 시설재배지를 중심으로 뿌리혹선충 발생실태를 조사한 결과 2,074개의 포장 중 42%의 검출률을 보였으며 박과 작물인 오이는 44%, 수박 45%, 참외 42%, 멜론 31%의 검출률을, 가지과인 토마토 40%, 고추 41%의 검출률을, 장미과인 딸기는 46%의 검출률을 기록하고 있다. (시설재배지 뿌리혹선충의 피해조사 및 발생정보 DB구축, 이재국, 농촌진흥청, pp.79)

국내 시설재배지의 약 54%가 뿌리혹선충에 감염되어 있으며, 이들 선충으로 인하여 원예작물 생산량이 15% 정도 감소하는 것으로 보고 되고 있다.



농촌진흥청 조사(2016년 6월~8월) 결과에 따르면 딸기는 시설재배지만 아니라 육묘장에서도 뿌리썩이선충(11%), 뿌리혹선충(4%)과 같은 문제 선충이 감염되는 것으로 나타났다.

이러한 선충의 피해로 인하여 단위 면적당 생산량이 높고 고품질의 생산이 가능하며 토양의 연작

장해와 같은 피해가 없는 수경재배로 전환하는 농가가 증가하고 있다. 국내 수경재배 면적이 2000년 763ha에서 2019년 3,696ha로 증가하였고, 이는 계속해서 증가할 것으로 보여진다. 수경재배 시설의 증가는 폐양액으로 인한 환경오염의 증대로 이어지기에 이를 해결할 방안이 필요한 실정이다.

또한 수경재배 시설의 경우, 육묘 과정에서 선충으로 인한 피해를 많이 받고 있는데, 육묘장에서 육묘를 하는 과정에서 전년도에 사용하던 상토를 소독하지 않고 다시 사용하거나 이병된 어미묘를 심는 경우에 발생밀도가 높아진다. 농가에서는 육묘장에서 상토에 묻어오는 선충의 유무에 대한 내역을 확인할 수 없기에 배지에 정식하여 재배하는 과정에서 피해를 입는 경우가 증가하고 있다.

이러한 문제를 해소하기 위해서는 방제효과가 탁월한 동시에 친환경적인 제품의 개발이 절실하나, 아직까지도 이에 대한 결과는 미진한 상태이다.

### 가. 선철이의 살충 기작



자사가 개발한 선충방제제 선철이는 살선충 미생물과 식물 추출물 그리고 식물의 뿌리 발근을 촉진하는 친환경 유기물질을 투입하여 선충을 방제하는 한편 피해를 입은 식물의 영양성분을 보강하여 작물의 생산성을 증진시키는 2차원적인 원리로 접근하여 기존의 타사제품과 차별화를 이루었다.



- 주성분 : *Bacillus subtilis* J-11, 고삼추출물(Matrine)

- 작용기작 및 효과

- o *Bacillus subtilis* : 항곰팡이성 대사산물 유발, 항생제 분비, 선충의 키티층 분해
- o 고삼추출물(Matrine) : 신경중추 마비, 섭식 저해
- o 해조추출물 : 작물생육 증진

기존의 미생물, 식물추출물, 해조추출물을 이용한 제품에 규산염백토(고령토)를 추가하여 작물 생육 증진과 선충의 방제가를 높일 계획이다. 현재 수원대학교 바이오산업연구소의 선충방제 실험에서 얻은 75.49%의 수치가 있으나 포장의 환경(온도, 습도, 작물종류 등)에 따라 방제가에 차이가 생기는 부분을 보완하기 위해 제품을 개선하려 한다.

미생물분석성적 ( 수원대학교 바이오산업연구소)

분석항목	분석결과	방제가	비고	
선충밀도분석	32	75.49%	선철이 3반복 측정	
	38			
	41			
	132			
	159			151(평균)
	162			무처리 3반복 측정

#### 나. 규산염백토(고령토)

규산염은 복합미네랄 조성물로 강알카리성 및 강력한 음이온과 원적외선을 발산하며 자정능력을 갖고 있는 무공해 물질로 농업용자재, 수처리제, 세제, 접착제, 코팅제 등 자동차, 의료, 화장품 및 BIO산업 등 최첨단 산업에서 광범위하게 사용되는 무한한 능력을 가진 소재이다. 규산염은

규소와 산소가 결합된 물질로 살균성, 침투성, 세포활성, 소염성, 정화 능력이 뛰어난 특성을 가진다.

(1) 성분표

성분	함량(%)
SiO <sub>2</sub> (이산화규소)	71.4
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (산화알루미늄)	16.7
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (산화철)	1.37
CaO (산화칼슘)	0.05
MgO (산화마그네슘)	0.10
TiO <sub>2</sub> (산화티탄)	0.04
K <sub>2</sub> O (산화칼륨)	4.87
Na <sub>2</sub> O (산화나트륨)	0.22
기타	5.25
합	100

(2) 응용범위

- 인체 응용 : 식용 생활용품, 건강식품, 의약품, 독성물질의 해독작용
- 농수축산 응용 : 식용, 음용, 항생물질, 대체품, 적조오염 방지용
- 동식물 응용 : 식물, 식물주입, 수경재배 등
- 공업 응용 : 배관방청, 열효율 개선 등
- 환경 응용 : 토양개량, 수질관리, 배수관리 등
- 식품 응용 : 식품환원, 식품세정, 원적외선 효과 등

포천 규산염백토광산

규산염백토

Bacillus subtilis

+

Matrine

+

해조추출물

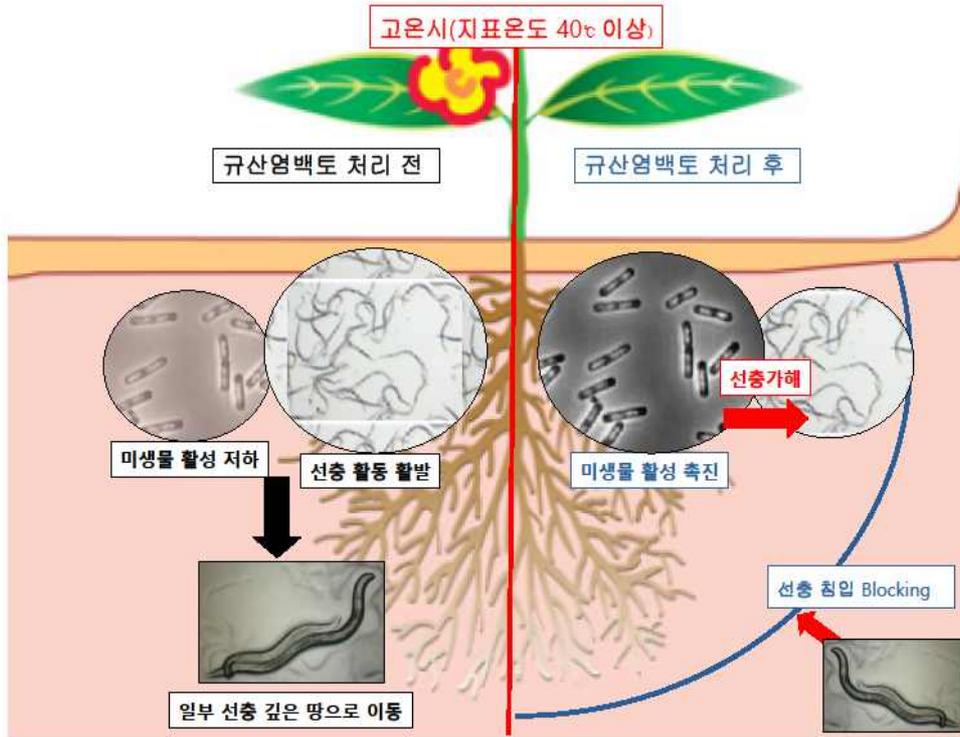
- 병충해저항성 강화
- 환경 stress 에 의한 피해 완화
- 광합성 증가
- 토양영양 방지
- 작물 성장촉진
- 수확량 증대

(3) 규산염 백토가 작물 생육에 미치는 효과

- 세포벽의 강도 증가에 의해서 병해저항성, 충해저항성, 식물의 직립 성장과 조직강화
- 줄기와 뿌리 조직의 밀도 강화로 수량증대

- 유해물질 흡수 억제, 환경 stress(고온장해, 건조장해 등)에 의한 피해 완화
- 표피세포 곁에 규질화 세포를 생성하여 빛이 세포를 통과할 때 광산란 효과를 유발하여 광합성 증가
- 규산염백토는 일반 점토와 달리 점결력이 약하여 토양의 응집력을 떨어트려 토양영양을 방지함으로써 토양으로의 산소의 공급을 원활히 하고 뿌리가 뭉치는 현상을 개선
- 본 연구에 사용할 포천 광산소재의 규산염 백토의 경우 음이온 방출량은 250ion/kg이며 방사능 방출량은 120Bq/kg으로 음이온 방출량은 크게 높지 않지만, 방사능 방출량이 높아 기능 강화에 도움을 줌
- 음이온을 방출하여 양이온 흡착을 용이하게 하므로 식물 성장에 필요한 성장 촉진 금속이온의 흡착이 쉬워 작물 성장에 도움을 줌
- 일반적으로 가장 효과적인 방사능 방출량은 150Bq/kg 정도이나 본 연구에 이용할 규산염백토는 120-140Bq/kg의 방사능 방출량을 가지고 있어 매우 좋은 조건이라고 볼 수 있음.
- 방사능의 경우 적당량 이상으로 높으면 식물이나 동물 등에 치명적인 해를 입히지만, 적정량 존재할 경우 성장 촉진 및 세균이나 바이러스 등의 병해를 억제하고 유해물질을 분해 제거하여 매우 유용하게 활용됨
- 규산 처리에 따라 생육지표가 무처리구에 비해 증가하였으며 고온과 저온장해 지표가 감소, 건조 내성도 증가하는 결과가 나옴. (Ngoc-Thang Vu, Si-Hong Kim, Seung-Yeon Kim, Ki-Young Choi, Il-Seop Kim. (2015). Effect of Silicate Fertilizer on Growth, Physiology and Abiotic Stress Tolerance of Chinese Cabbage Seedlings. 시설원예·식물공장, 24(2), 51-56.)
- 수용성 규산함량이 높을수록 근장, 지상부와 포복경의 생체중과 건물중, 한국잔디의 밀도가 유의성 있게 증가함.(한정지, 이광수, 박용배, 최수민, 양근모, 배은지. (2015). 수용성 규산염 시용에 따른 한국잔디의 생육효과. Weed&Turfgrass Science, 4(2), 144-150.)
- 규산염을 저면관수로 공급하였을 때 칼라코에 잎에 가장 많이 흡수되어 그 영향으로 엽록소 함량이 증가하였다.(손문숙, 오혜진, 송주연, 임미영, Iyyakkannu Sivanesan, 정병룡. (2012). 규산염 종류와 적용방법이 칼라코에 ‘페페루’의 생육에 미치는 영향. 원예과학기술지, 30(3), 250-255.)
- 수용성 규산염을 원료로 한 규산질 비료를 논토양에 처리하였을 때 토양 pH의 변화를 둔화시켰으며 규질비(SiO<sub>2</sub>/N)가 증가하는 결과가 나와 규산질 비료의 토양시비는 토양의 화학적 성질 개선 및 수도 생육을 위해 바람직하다.(주진호, 이승빈. (2011). 논토양에서 규산질비료 시용이 토양 환경에 미치는 영향. 한국토양비료학회지, 44(6), 1016-1022.)
- 규산염처리는 그리핑 벤트그래스의 생육을 증진시켰는데 무처리구 대비 약 2.3cm 더 길었고 잔디분얼경 밀도도 높았으며 시각적 잔디품질 효과도 무처리구보다 0.3~1.5 정도 우수하였다. 우리나라 골프장 그린에 식재된 그리핑벤트그래스의 여름철 뿌리길이 생육에 효과가 있었다. (이재필, 유태영, 문세중, 함선규, 김두환. (2008). 규산염의 시비가 크리핑 벤트그래스의 여름철 생육에 미치는 영향. Weed&Turfgrass Science, 22(2), 217-223.)

(4) 규산염 백토의 선충에 대한 영향



- 자사가 선정된 규산염백토는 경기도 포천의 광산에서 공급할 예정이며 본 광산의 규산염백토는 성분분석 결과 이산화규소(SiO<sub>2</sub>)가 71.4% 함유된 것으로 분석되었다.
- 시제품인 선철이는 미생물과 식물추출물이 주원료인데 선충방제에 큰 역할을 하는 미생물은 토양의 지온이 상승하는 낮 시간에는 활동이 둔화하는 현상을 보인다.
- Bacillus 균의 증식온도는 보통 10~15℃이고 최적온도는 35℃로 고온에서도 잘 자라는 축에 속하지만, 시설재배 하우스에서 흑백멸칭을 한 상태에서 지표 온도는 40℃를 웃도는 경우가 많다.
- 선충의 감염적온은 15~18℃이나 일부 종은 35℃ 이상의 높은 온도에서도 활동이 왕성하다. 특히 선충은 이동성이 좋아 지온이 높아지면 온도가 낮은 땅속으로 내려갔다가 온도가 낮아지면 다시 지표근처로 올라와 가해를 시작하여 방제가 쉽지 않다.

- 본사의 기업부설연구소의 실험결과

무처리	규산염백토 처리 48시간 후
	
	
	

시설재배 토양을 채취하여 규산염백토 1,000배 희석액을 처리하고 36시간 경과 후 토양분석 한 결과. 무처리구 대비 약 30%의 선충 감소 효과를 얻을 수 있었고 선충의 활동성이 무처리구 선충 대비 40%가량 저하되는 것을 확인할 수 있었다.

- 자사의 실험 결과 규산염백토의 직접적인 선충 가해여부는 연구가 더 필요할 것으로 보이며 선충에 대한 기피 효과 및 활동력 저하에는 큰 효과가 있는 것으로 확인되었다.

## 2. 연구개발 대상의 국내외 현황

### 가. 국내 기술 수준 및 시장 현황

#### (1) 기술현황

##### (가) 국내 기술현황

국립농업과학원에서는 주요 경제작물의 재배지에서 선충 포식성 곰팡이를 분리하여 곰팡이의 유형을 파악하고 분리된 곰팡이 중 *Arthrobotrys irregularis*를 이용한 뿌리혹선충 방제용 "Royal 350" 등이 제품화 되어 판매되었다.

친환경 농업에서 많은 개발이 이어지고 있는 식물추출물은 고삼, 데리스, 계피, 제충국 등이 있으며, 2009년 농촌진흥청의 통계자료에 의하면 유기농업자재 목록공시 해충 방제용 제품 중에 고삼 관련 제품이 20종, 님오일 제품이 10종, 데리스가 3종, 제충국이 3종 등으로 등록이 되어 있었으며, 미생물을 주원료로 하는 살충제는 Bt균이 8종, 기타 5종이 등록되어 있었다.

토양선충의 천적은 바이러스, 무척추동물(포식성 선충, 응애 등), 세균(*Bacillus spp.*, *B. subtilis* 등), 포식성 곰팡이(*Arthrobotrys spp* 등), 기생성곰팡이(*Catenaria spp.*, *Myzocytium spp.* 등) 이 있다. 식물기생성 선충의 방제제는 대부분 천적미생물을 활용한 것이 대부분이며 연구논문과 특허는 다수 있으나 실용화 제품화의 단계는 미흡한 것이 현실이다.

선충 전문가의 부족으로 인하여 기술의 경쟁력 열세와 같은 것들로 인하여 아직 극복해야 할

과정이 많이 존재하고 있다. 그러나 정부 산하의 연구소, 기업, 대학에서 다양한 연구가 활발하게 진행되고 있기에, 미생물 특허의 출원 건수가 증가하고 있어, 앞으로의 전망은 밝다고 할 수 있다.

### ① 시장현황

국내 시장은 2014년 약 3,000억, 2019년에는 약 5,000억 규모로 예상된다.

구분	2014년	2019년
국내 시장규모	약 3,000억 / 년	약 5,000억 / 년
근거	국내 : 2012년 8월 한국농촌경제연구원 보고서, 2012년 연구성과 보고서, 2013~2016년 농기자재 신문	

### ② 경쟁기관현황

국내에서 개발되는 선충 방제용 생물농약은 화학농약의 사용규제에 대응하는 친환경 생물농약을 목표로 하고 있으며, 목표시장은 경제작물, 특용작물, 과채류 등의 친환경 유기농업자재 분야의 국내 시장이다. 유기농업자재는 충해관리용, 병해관리용, 작물생육용, 토양개량 및 작물생육용 등으로 나뉘어 있으며, 액상, 분상, 입상 등 다양한 형태의 제품이 존재하고 있다. 국내에서는 대기업의 경우는 화학농약의 개발에 집중하고 있으며, 생물농약을 생산하거나 제공하고 있는 중소기업으로는 팜한농, 성주참외혁신지원단, 경농, 대유, 에코윈, 한국바이오케미칼, 이에스에프, 남보, 오더스, 비엔에스코페리이션, 넬바이오텍 등의 경쟁사가 존재하고 있다.

경쟁사명	제품명	판매가격 (단위:천원)
① Valent사	BioAct	6 usd
② ㈜팜한농	네마프리	25 / 1ℓ
③ ㈜한국바이오케미칼	선충에	25 / 1ℓ
④ ㈜대유	대유선충뚝	50 / 2ℓ
⑤ ㈜에코윈	참선충, 참선충 골드	35 / 1ℓ
⑥ ㈜이에스에프	참선충 입제	30 / 5kg
⑦ ㈜성주참외혁신지원단	선충제로	100 / 10ℓ
⑧ ㈜남보	네마캐치 액제	30 / 1ℓ
⑨ ㈜오더스	네마큐	35 / 500ml
⑩ 비엔에스코페리이션(주)	네마킹	30 / 500ml
⑪ ㈜넬바이오텍	네마트롤	100 / 1ℓ

## ③ 지식재산권현황

지식재산권명	지식재산권출원인	출원국/출원번호
① 뿌리혹선충 방제용 파스테리아페네트랜스	대한민국(농촌진흥청)	대한민국 / 10-1997-0017228
② Myrothecium sp. P10-008의 배양액을 포함하는 살선충용 조성물 및 이의 이용방법	대한민국(농촌진흥청)	대한민국 / 10-2012-0131093
③ 살충활성을 갖는 녹두 추출물	대한민국(농촌진흥청)	대한민국 / 10-2014-0160326
④ 유채박 및 갓박 혼합제제를 유효성분으로 함유하는 선충 방제용 조성물	대한민국(농촌진흥청)	대한민국 / 10-2015-0131638
⑤ 네마황 추출물을 함유하는 선충방제용 조성물	충남대학교 산학협력단 (주식회사아미텍)	대한민국 / 10-2017-0048211

## ④ 기타현황

친환경 농자재 분야에서도 선충방제제가 출시되고 있으나 선충을 직접적으로 가해하기보다는 작물 뿌리의 발근을 유도함으로 선충의 피해를 상쇄시키는 방향으로 진행되어 근본적인 대안이 되기에는 역부족인 현실이다.

## (나) 국외 기술 수준 및 시장 현황

## ① 기술현황

신젠타에서는 콩 씨스트 선충을 방제하는 제품으로 *Pasteuria spp.* 균주를 주성분으로 하는 처리제가 개발되어 등록 진행 중이거나 시판되고 있다. 고구마뿌리혹선충 방제 방안으로 선충의 교미, 섭식 등의 행동을 저해하는 물질을 생산해내는 미생물에 관한 연구가 이루어지고 있으며, 이외에 단백질 분해 효소들에 관한 연구가 대다수이다.

국외에서 천적미생물을 이용한 선충 방제 포장시험에서 좋은 효과를 나타내는 보고는 있었으나, 국내의 재배환경, 토양 환경, 작물재배 방법 등이 상이하여 국내에서 적용이 가능한 방법을 확립해야 한다.

최근 유럽, 미국 등의 해외 선진국에서는 농작물 선충방제에 사용되어 오던 고독성 토양 훈증용 농약을 대체할 수 있는 살선충성 미생물, 식물추출물, 유인 녹비작물을 이용한 친환경 선충방제제 개발에 초점을 맞추고 있다.

## ② 시장현황

세계 선충 방제제 시장의 규모는 2014년 100억 1,100만 달러였으며 2019년에는 대략 153억 2,950만 달러 규모로 예측되고 있다.

구분	2014년	2019년
국외 시장규모	10,011 백만 달러(추정)	15,329.5 백만 달러(예측)
근거	BCC Research, The Global Market, Feb. 2010, AgriSeivice, 2006~2012, Transparency market research 2018	



③ 경쟁기관현황

국외의 선충 방제용 생물농약의 주요 경쟁사는 미국의 Valent사이며, 연평균 판매액은 260만불 정도로 예측되고 있다.

## 제 2 절 연구개발의 목표 및 내용

### 1. 연구개발의 목표 및 내용

#### 가. 최종목표

(1) 중소기업기술정보진흥원의 2018년도 산학연협력 기술개발(도약)사업을 통해 개발한 제품인 친환경 선충방제제 “선철이”의 제품 개선

(가) 규산염백토 추가로 인한 선충 기피효과 추가(12page 모식도 참고) : 기존 제품의 포장환경에 따른 방제가 편차 문제 해결

(나) 작물 생육촉진 효과 증진 (수확량 증대 및 생육 증진)

- 규산염의 효과로 세포벽의 강도 증가에 의해서 병해저항성, 충해저항성, 식물의 직립 성장과 조직강화 및 뿌리와 줄기의 조직밀도 강화
- 규산염의 효과로 광합성 증가 : 표피세포 겉에 규질화 세포를 생성하여 빛이 세포를 통과할 때 광산란 효과를 유발
- 토양 영김방지 : 규산염백토는 일반 점토와 달리 점결력이 약하여 토양의 응집력을 떨어트려 토양영김을 방지함으로써 토양으로의 산소의 공급을 원활히 하고 뿌리가 뭉치는 현상을 개선

(다) 유기농업자재 목록공시 등록

- 이화학분석 : 제품 주성분에 대한 유효성분 함량 검사
  - 322가지 성분의 잔류농약검사
  - 5가지 작물(예 : 배추, 상추, 오이, 고추, 토마토 등)에 대한 약해 시험
  - 독성시험 : 급성경구, 급성경피, 피부자극, 안점막자극, 어독성, 꿀벌독성
- 위 네 가지 시험을 모두 거쳐 이상이 없다는 성적서를 발급받아야 유기농업자재 목록공시를 접수할 수 있는 자격이 주어진다.

- ① 유기농업자재 목록공시 등록을 진행하여 친환경자재시장 진출
- ② 지속적 제품 검사 및 관리로 안전성 확보 (연 1회 잔류농약검사, 이화학분석실시)
- ③ 농협 계통계약을 통한 공급
- ④ 정부 지자체 보조사업 추진
- ⑤ 신뢰성 확보를 통해 관행농가 시장개척

나. 세부목표

(1) 규산염백토와 기존 선철의 배합률 도출

- 실험실에서 1차로 배합을 테스트 후 포트실험 / 현장실증 실험 동시 진행
- 여러 비율로 실험 후 제품 안전성과 물성 변화를 확인 후 작물실험
- 투입 미생물과 기능성 식물추출물 및 규산염백토가 실제 현장에서 최대의 효과를 내도록 하는 주성분 농축 제형화 기술
- 복합 주성분의 상호 보완 및 증강 시너지 효과로 다양한 외부환경 조건에서도 안정적 효과 발현
- 최대 3년 유통기한 보장(친환경 물질 보조제 사용)

(2) 개선된 선철이의 희석배수 확인

- 기존 제품은 1,000배 희석이었으나 광물질이 추가되었기에 침전도, 물과의 용해도 등을 고려한 희석배수 실험
- 최적의 효과 및 경제적이고 효율적인 희석배수를 새롭게 도출하여 사용자의 노동력과 비용 절감을 돕는다.
- 속효성을 갖는 토양침투 선충방제제 개발

(3) 객관적인 선충방제가 확인을 위한 외부기관에서의 선충방제가 시험

- 수원대학교 바이오산업연구소

(4) 객관적인 생육증진효과 확인을 위한 외부기관에서의 작물재배 시험

- ㈜현농 기업부설연구소에서 진행 예정

(5) 현장 포장실증 실험

- 실험실 내에서의 포트실험에는 한계가 있어 기본적인 실험만 실험실 내의 포트로 하고 적정 배합도출 후에는 섭외된 포장에서 대규모 비교실험 진행
- 동시에 기존 영업으로 확보되어있는 지역별, 작물별 거래처를 통해 무상 선충분석 후 제품 방제가 및 작물 생육효과 실험 진행

작물명	지역	면적
토마토	강원도 양구군	150평(500m <sup>2</sup> )
수박	강원도 양구군	150평(500m <sup>2</sup> )
오이	강원도 양구군	150평(500m <sup>2</sup> )
멜론	강원도 양구군	150평(500m <sup>2</sup> )

(6) 확실한 QA관리

- 제품 생산을 위한 배합 전 입고된 원료의 잔류농약검사를 실시하여 제품 QA관리 철저
- 연 2회 제품에 대한 이화학분석과 잔류농약검사를 실시하여 관리

(7) 유기농업자재 목록공시 진행

시험기관	세부내용	목표	시험성적서 확보 예정년월
강원대학교 친환경농산물 안전성센터	1. 이화학분석 (주성분에 대한 유효성분 함량)검사	matrine 보증	2020, 09
	2. 322성분의 잔류농약 검사	무검출	
	3. 5가지 작물에 대한 약해시험	약해 0%	
한국 생물안전성센터	독성시험 ( 급성경구, 급성경피, 피부자극, 안점막자극, 어독성, 꿀벌독성 시험 )	독성 0%	2020, 08

(가) 유기농업자재 목록공시 진행을 기반으로 친환경시장 진출

(나) 지속적 제품 검사 및 관리로 안전성 확보 (연 1회 잔류농약검사, 이화학분석실시)

(다) 농협 계통계약을 통한 공급

(라) 정부 지자체 보조사업 추진

(마) 신뢰성 확보를 통해 관행농가 시장개척

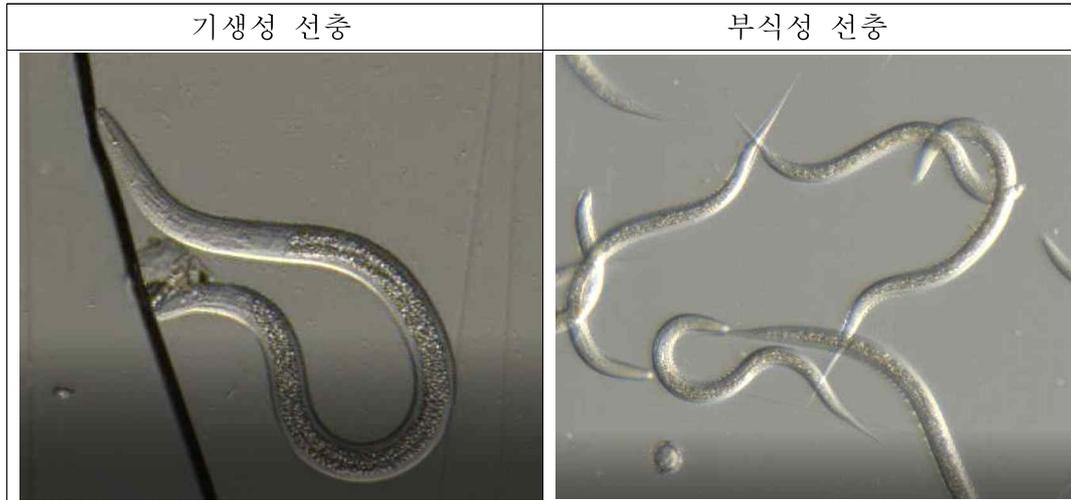
- PLS(Positive List System) 법 시행으로 기존 농약사용이 금지된 상황으로 일반 관행농가의 친환경자재 수요 증가
- 자사의 영업조직을 기반으로 현장과 소통하며 진단과 처방을 동시에 진행

다. 연차별 개발목표 및 내용

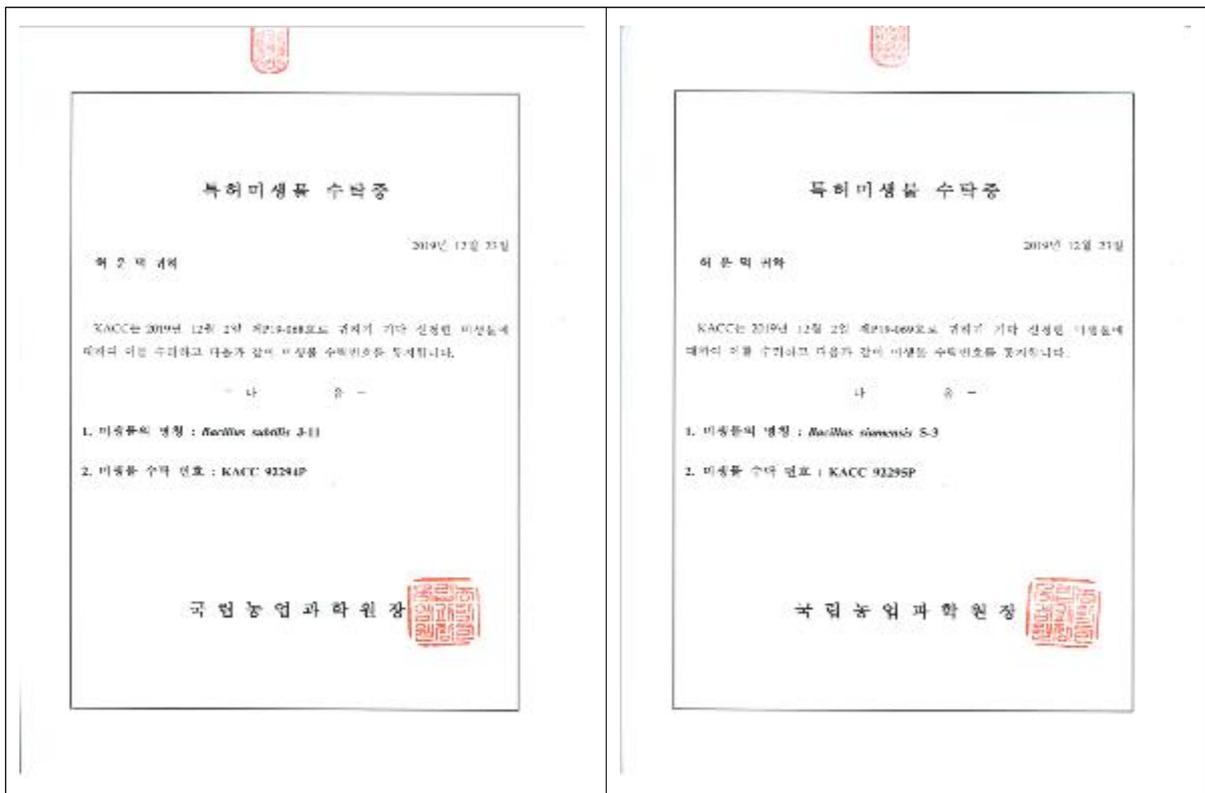
(1) 개발 내용 및 범위

① 기술개발 준비현황

- 기존의 토양 선충을 분리하는 방법인 깔대기법을 개선한 간이 방법 확립으로 토양선충 분리 및 기생성 선충 확인 가능
- 토양으로부터 선충의 분리까지 3~4일이 소요되던 것을 자사는 36시간만에 분리가 가능
- 토양에서 분리한 수백 마리의 선충 중에서 기생성 선충을 선별하여 선충 피해토양 유무를 판별할 수 있는 노하우 확립
- 지난 12년 토양선충 분석 경험을 토대로 선충 방제제 개발 역량을 갖추
- 토양 10g당 선충은 적게는 10마리부터 많게는 500마리까지 관찰되는데 기생성 선충과 부식성 선충 여부를 확인할 수 있는 노하우 확보

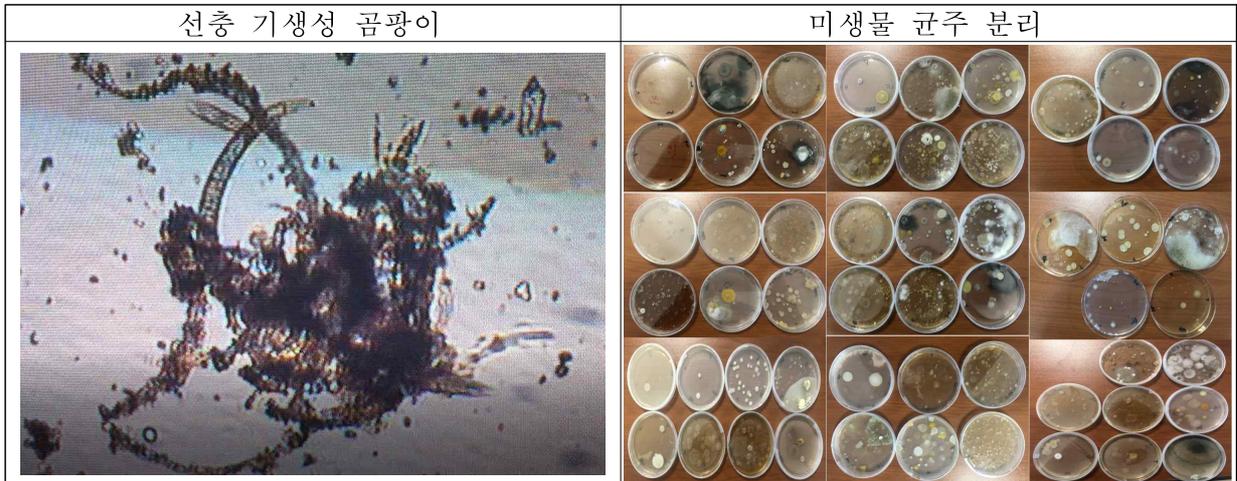


- 선충을 가해할 수 있는 미생물 분리 및 확보  
선충의 체내로 침입하여 선충을 사멸시킬 수 있는 미생물 *Bacillus siamensis* S-3, *Bacillus subtilis* J-11 의 두 종을 선발하였으며 국립농업과학원 미생물은행에 미생물 기탁 완료





[효소 활성도 분해 진행 과정 및 능력검정]



## [토양으로부터 선충을 분리하는 깔대기법]

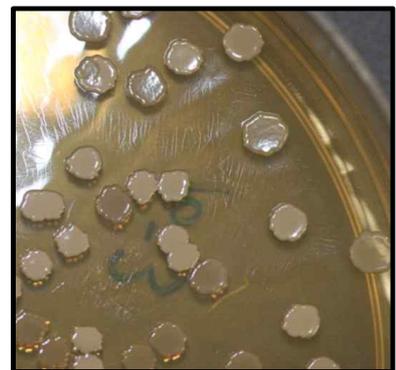
단계	자 료	설 명	단계	자 료	설 명
1		거치대에 깔대기를 올림	7		토양위에 물을 부어 선충을 분리함
2		깔대기 밑을 클램프로 조여 막음	8		토양이 물에 스며들도록 물을 부음
3		깔대기에 철망을 올림	9		수분이 증발하여 마른 토양이 관찰됨
4		철망위에 휴지를 올림	10		깔대기 아래 부분에 선충액이 관찰됨
5		휴지를 올린 깔대기 모습	11		선충액을 채취함
6		분석하고자 하는 토양을 올림	12		현미경 관찰

자사가 연구개발한 “선철이“는 선충을 방제하는 친환경 방제제로 자사가 선별 분리한 키틴 분해 능력과 단백질 분해 능력이 있는 *Bacillus sp.* 의 미생물(*Bacillus siamensis S-3, Bacillus subtilis J-11*) 과 살선충력을 가지는 고삼추출물(주성분 Matrine)을 이용하여 선충을 방제하고 동시에 해조추출물을 이용하여 작물의 생육을 증진시키는 기작을 가진 제품이다.

▶ *Bacillus subtilis*

고초균(*Bacillus subtilis*)은 자연계에 널리 분포하는 비병원성, 호기성 간균의 일종으로 공기중은 물론 마른 볏짚, 하수, 토양중에서 쉽게 채취할 수 있는 세균으로 단백질 분해능력이 뛰어나다. 보통의 배지에서도 잘 발육하여 세균 중에서 가장 많은 연구가 이루어진 그람양성 세균의 모델생물이다.

고초균은 단백질분해 효소를 분비하여 단백질의 구성성분인 아미노산을 하나하나 떼어놓는 역할을 한다. 바실러스 세균은 토양에 들어가서 단백질의 원료가 되는 지렁이, 땅강아지, 선충 그리고 미생물의 죽은 몸을 분해하여 아미노산으로 전환시킨다. 이렇게 바실러스 세균에 의해 분해된 산물은 모두 작물이 흡수를 하게 되고 작물의 생육은 좋아지게 된다. 이렇게 각종 유기물의 분해, 특히 난분해성 유기물 분해에 중요한 역할을 하며 향생물질을 분비하기도 한다.



[ agar plate의 고초균 colony ]

▶ 고삼 추출물 Matrine

예로부터 고삼은 살충효과가 뛰어나 가축 피부에 기생하는 기생충과 재래식 화장실의 구더기를 없애는데 이용되어 왔다. 현재 친환경 농업에서는 천연살충제로 깍지벌레와 진딧물, 응애 등 해충 방제에 널리 이용한다. 주로 뿌리 추출액을 원료로 하는데 뿌리나 전초를 생즙을 내거나 물에 달이거나 알코올에 우려내어 사용한다.

고삼은 식물 전체에 알칼로이드가 있는데 그 중 뿌리의 총 알칼로이드 함량은 보통 1.1%이다. 그 가운데는 마트린이 0.25~0.48%, 옥시마트린이 0.48~0.75%이다. 마트린은 중추신경계에 작용한다. 처음에는 대뇌마비를 일으키고 차츰 경련중추를 흥분시켜 센 경련을 일으키고 횡경막과 호흡 및 근육 운동신경 말초를 마비시켜 숨이 멎어 죽게 된다.

수원대학교 바이오산업연구소에서의 선충방제가 테스트 결과 75.49%의 결과를 얻었으나 실제 현장에 적용하였을 때 포장환경에 따라 방제가에 편차가 발생하였다. 이를 보완하기 위하여 작물 생육촉진 효과를 증진시키는 방안을 모색하였고 그 결과 규산염백토를 추가하여 제형의 안정성과 동시에 방제가의 안정성도 얻을 수 있음을 확인하였다. 이를 바탕으로 제품의 업그레이드를 진행하고 동시에 유기농업자재 목록공시를 추진하여 제품에 대한 소비자들의 신뢰를 확보하고 유기농업자재 시장에 진출하여 매출을 증대시킬 계획이다.

2. 평가의 착안점 및 기준

가. 개발 시제품의 제품화 여부

나. 유기농업자재 목록공시 성공여부

다. 공시번호 부여 완료 예상 시기가 9월로 작물재배가 완료되는 시기라 당해연도에는 매출 발생을 기대하기가 어려움. 기술자료집과 홍보물 제작에 집중하여 공격적인 마케팅과 영업으로 차재년도인 2021년도에 매출이 크게 발생할 것으로 예상함

라. 친환경작목반을 대상으로 본사 회의실에서 교육지도 및 제품 설명회 개최 계획

마. 제품의 수요가 늘면 제조 전담 인력의 부족으로 고용 창출 발생

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과목표												연구기반지표							
	지식 재산권			기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용 홍보		기타 (타 연구 활용 등)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		논문		학술 발표			정책 활용	홍보 전시	
												SCI	비SCI						
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	회	명	건	건		
가중치						20	30		10		30				10				
최종목표						1	1,805		5		1				18				
1차년도						1	5				1				2				
종료1차년도							250		1						4				
종료2차년도							350		2						4				
종료3차년도							500		1						4				
종료4차년도							700		1						4				
소 계						1	1,805		5		1				18				
종료 1차년도																			
종료 2차년도																			
종료 3차년도																			
종료 4차년도																			
종료 5차년도																			
소 계																			
합 계																			



## 제 2 장 연구개발과제의 수행 과정 및 수행 내용

### 제 1절 연구개발의 추진전략·방법 및 추진체계

#### 1. 연구개발 추진전략 및 방법

- 개선된 시제품을 제조하기 위하여 다양한 비율로 실험한 후 시제품을 제조한다.
- 시제품을 제조하는 과정에서 자체 연구소에서 포트실험 및 현장의 실증실험을 진행한다.
- 시제품으로 작물에 대한 약해시험, 이화학분석, 잔류농약분석, 독성 시험을 진행한다.
- 유기농업자재 목록공시를 신청하기 위하여 약해시험, 이화학분석, 잔류농약 분석은 강원대학교 친환경농산물안전성센터에 분석을 의뢰하고, 유기농업자재 독성시험은 (주)한국생물안전성연구소에 의뢰하여 6가지 항목에 대한 분석을 진행한다.
- 객관적인 선충방제가의 확인을 위하여 외부기관인 수원대학교 바이오산업연구소에 방제가 분석을 의뢰한다.
- 객관적인 작물의 생육증진효과를 확인하기 위하여 외부기관인 (주)현농에 의뢰하여 작물 생육 증진에 대한 분석을 의뢰한다.
- 최종적으로 충해관리용 유기농업자재로 공시하여 제품화하고 제품을 생산한다.

#### 2. 연구개발 추진체계

주관기관	참여연구원	담당기술내용
(주)고려바이오연구소	과제책임자(허운덕)의 3명	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 개발 제품의 경시적 안정성 평가</li> <li>- 개발제품의 유기농업자재 목록공시 진행</li> <li>- 시제품 제조 및 제품 효과 평가</li> <li>- 시제품의 방제효과 포장 검증</li> <li>- 시제품의 생육촉진 효과 검증</li> </ul>

#### 3. 추진일정

일련 번호	연구내용	1차년도												연구 개발비 (단위: 천원)	책임자 (소속 기관)	
		월별 추진 일정														
		2020/ 4	5	6	7	8	9	10	11	12	2021/ 1	2	3			
1	실험 계획 수립															허운덕 (주)고려바이 오연구소
2	실증포장 섭외 및 배합비율 최적화															“
3	배합비율, 희석배수 실험 및 확정															“
4	시제품 제조 및 약효, 약해 시험															“
5	작물생육 효과 확인															“
6	유기농업자재 목록공시 진행															“
7	자료 정리 및 제품보완															“
8	최종보고서 작성															“

## 제 2 절 연구개발 내용 및 결과

### 1. .제품의 개선

#### (1) 선철이 제품 개선

선철이 제품에 들어가는 유효성분, 효과증진용 첨가제, 제제화용 첨가제는 선행연구를 통하여 진행이 완료되었으며, 제품의 개선을 위하여 사용되는 규산염백토와 식물추출물, 미생물 배양액을 조합하여 선충의 살충효과에 대한 테스트를 진행하였다.

기존 선철이 제품에 들어가는 고삼추출물, 바실러스 배양액, 규산염백토의 배합비율을 다양한 조합으로 시제품을 생산하여 해당 제품에 대한 실험을 진행하여 결과를 도출하고 이를 토대로 하여 배합률을 결정하여 완성품을 제작하고자 한다.

#### (가) 시제품의 배합률 실험

규산염백토를 추가하는 시제품의 비율을 조정하기 위하여 각각의 조합에 따른 살선충 능력을 확인해 보았다. 연구실 내에서 깔대기법을 이용하여 토양 적용 시험을 진행하였으며, 토양은 기존에 선충이 많이 있는 농가에 협조를 구하여 준비한 감염토양을 준비하여 사용하였다.

각 실험군 별로 식물추출물, 미생물 배양액, 규산염백토의 비율을 변경하여 깔대기법을 이용하여 살충율 테스트를 진행하였다. 통계처리와 유의성 검정에 관하여서는 배합별로 수행하였고, 유의차에 대한 검정방법은 Duncan's multiple range test(DMRT)로 5% 수준에서 검정하였다 (R 4.1.0 소프트웨어). 각각의 처리구는 고삼추출물, 미생물 배양액, 규산염백토의 비율을 변경한 것으로, A(1:1:1), B(2:1:1), C(1:2:1), D(1:1:2), E(3:1:1), F(1:3:1), G(1:1:3), H(2:2:1), I(2:1:2), J(3:3:1), K(3:1:3), L(4:2:1)의 비율로 하여 실험을 진행하였다.

처리구	처리농도(ppm)	살선충율(평균±표준오차, %)		
		24시간 후	48시간 후	72시간 후
A	1000	90.60±2.0	94.40±2.0	97.60±1.14
	500	77.40±3.2	87.80±2.3	92.20±3.11
B	1000	91.20±1.6	94.8±1.6	98.0±1.22
	500	81.2±1.0	88.2±2.5	92.6±2.7
C	1000	88.2±2.1	91.8±2.1	96.8±2.3
	500	82.2±1.7	87.8±2.3	92.2±2.1
D	1000	77.2±2.8	84.8±2.3	90.8±2.5
	500	71.8±3.4	78.2±1.9	82.6±1.6
E	1000	91.0±1.5	95.2±1.3	98.2±0.8
	500	82.2±1.7	89.4±1.14	93.4±2.3
F	1000	88.8±1.4	82.0±1.8	97.2±1.6
	500	83.0±1.4	87.8±2.3	92.6±1.8
G	1000	76.2±1.9	83.8±1.6	90.0±1.8
	500	77.8±1.9	77.2±1.3	83.6±1.9
H	1000	91.6±1.6	95.4±1.8	100±0.0
	500	86.2±1.4	91.6±1.3	100±0.0
I	1000	81.2±3.0	90.0±2.2	96.2±1.9
	500	79.4±3.0	84.2±2.7	91.6±1.8
J	1000	91.8±1.3	95.8±1.3	100±0.0
	500	86.2±1.4	92.0±1	100±0.0
K	1000	81.4±2.8	89.6±2.1	96.0±1.8
	500	79.6±2.8	84.4±2.5	91.8±1.6
L	1000	92.2±0.8	96.0±1	100±0.0
	500	86.6±1.6	92.0±1	100±0.0

## (나) 작물 생장 실험

시제품 배합률 조합이 끝난 제품 중에서 작물생육 효과를 테스트하여 생육 효과가 좋은 것을 최종적으로 선택하기 위하여 작물재배 실험을 진행하였다.

작물 재배에 사용된 상토(한아름유기농원예용상토)를 이용하였고, 상추를 이용하여 생육 실험을 진행한 결과는 다음과 같다.

시제품	무게	엽수	엽장	엽폭
H	70	26	10.2	7.1
J	74	27	8.9	8.9
L	76	30	9.2	9.0

작물의 생육 테스트를 진행하면서 시제품의 농도별 작물의 약해정도를 테스트하기 위한 실험을 같이 진행하였다. 처리구당 3반복 하였으며, 농도별로 3일 간격으로 2회 분무처리를 하였고, 7일이 경과한 후에 약해의 정도를 조사하였다. 시제품 L의 경우에는 3반복 동안 약해가 일어나지 않았으나 H는 2반복, J는 3반복 때 아주 가벼운 약해가 있는 것으로 확인되어 시제품 합제를 위한 배합에서 제외하였고, 시제품 합제를 위한 최적의 비율은 500ppm 이하가 적당한 것으로 확인되었다.

시제품	약해정도(0~5)					
	1반복		2반복		3반복	
	500ppm	1000ppm	500ppm	1000ppm	500ppm	1000ppm
H	0	0	0	1	0	0
J	0	0	0	0	0	1
L	0	0	0	0	0	0

## 조사기준

- 0 : 육안으로 약해가 인정되지 않음                      1 : 아주 가벼운 약해로서 작은 약반이 약간 인정됨  
 2 : 처리된 잎의 소부분에서 약해가 인정됨            3 : 처리된 잎의 50퍼센트 정도 약해가 인정됨  
 4 : 상당한 피해를 받고 있으나 아직 건진한 부분이 남아 있음  
 5 : 거의 심한 피해를 받고 고사된 상태임

## (다) 시제품의 이화학적 안정성 조사

시제품을 보관온도(4℃, 25℃, 50℃) 및 보관기간(초기, 1주, 3주, 8주)에 따른 이화학적 안정성을 확인하기 위하여 수화성, 산도(pH), 침전여부에 대한 경시적 안정성을 조사하였다. 시제품의 수화성은 액상 수화할 경우 현탁액이 균일한지, 산도의 변화, 액상 수화 시 침전여부를 조사하였다. 8주간 각각의 보관 온도별 물리적인 물성의 변화는 없었으며, 50℃ 이상의 조건에서도 변질이 없는 것을 보면 유통 중에 변질은 일어나지 않을 것으로 보인다.

보관온도	구분	보관기간			
		초기	1주	3주	8주
4℃	수화성	균일	균일	균일	균일
	산도(pH)	6.25	6.31	6.28	6.37
	침전여부	없음	없음	없음	없음
25℃	수화성	균일	균일	균일	균일
	산도(pH)	6.32	6.37	6.28	6.36
	침전여부	없음	없음	없음	없음
50℃	수화성	균일	균일	균일	균일
	산도(pH)	6.41	6.38	6.48	6.54
	침전여부	없음	없음	없음	없음

## (라) 시제품 제작

이전 실험으로 선발이 완료된 식물추출물, 미생물 배양액, 첨가제 및 물성안정제와 시제품 배합률을 실험하면서 얻어낸 결과값을 이용하여 시제품을 최종적으로 제조하였다.

뿌리혹선충을 대상으로 실내 시험 및 pot 시험, 작물 생산성 증대 시험, 이화학적 안전성 시험을 통하여 최종 시제품을 결정하였고, 시제품의 배합은 다음과 같다.

## 시제품의 최종 Formulation

구분	원료명	투입비율
유효성분	식물추출물	60%
	미생물 배양액(J-11)	12%
효과증진용 첨가제	규산염백토	6%
	고착제(송진추출물)	1%
	해조추출물	7%
	보습제(sodium PCA)	1%
	UV 차단제(Lowilite62)	3%
	제제화용 첨가제	Polyalkyleneoxide Modified Heptamethy ltrisiloxane
	Castor oil, ethoxylated	5%

## 2. 시제품의 성능시험

### 가. 현장 포장 실증 실험

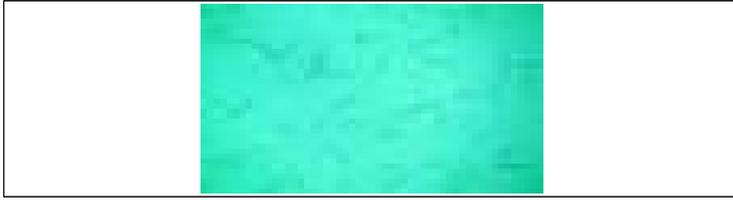
현장 실험은 강원도 양구군에서 진행하였으며, 대상 작물은 고추, 멜론, 오이, 토마토로 친환경 농산물을 생산하고 있는 농가를 섭외하여 진행하였다. 하우스 내에 실험을 진행하기 위해 이랑 별로 대조군, 희석 비율별 반복 실험구로 나뉘어 3반복 처리를 진행하였다.

보다 정확한 데이터를 얻기 위해서 더 많은 실험구에 반복적인 실험이 필요하나, 작기 중에 실험할 수 있는 하우스당 이랑의 수가 부족하고, 선충이 존재하는 하우스를 찾아 섭외하는 어려움으로 인하여 반복적 데이터가 부족한 부분이 있다. 이를 개선하기 위해서는 동일 작물의 선충 피해 하우스를 추가로 섭외하여, 더 많은 반복 실험을 진행하여 데이터를 확보함으로써 해결이 가능할 것으로 보인다. 다만 선충 피해를 입고 있는 하우스를 가지고 있는 농민을 찾아야 하는 과정과 하우스를 섭외하기 위한 비용 등의 문제를 해결할 대안이 필요할 것으로 보인다.

실험에 관한 결과는 아래의 결과보고서와 같다.

#### (1)고추하우스 포장실험 결과 보고서

작물명	고추
소재지	강원도 양구군 동면 (고추단동하우스)
임대기간	2020.07.01. ~ 2020.10.31
	
<p>2020.07.01.</p> <p>시설 내부 곳곳에서 고추 탄저병과 시들음 증상, 역병이 발견됨. 특히 시들음 증상이 심한 곳이 많아 작물이 크게 자라지 못하고 위화되는 현상이 많음. 당일에 가져간 선철이를 관주 처리 하였음. 희석배수에 따른 결과를 비교하기 위하여 정량 1,000배와 배량 500배를 동시에 진행하였음. 토양 채취(토양분석 실시)</p>	

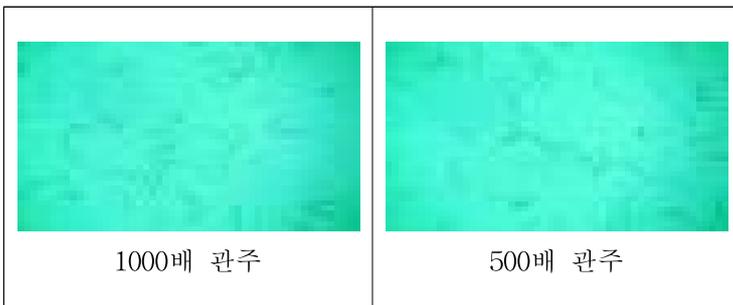


토양 분석 결과 : 식물기생성 선충이 다수 관찰 됨.



2020.08.01.

고온기가 되어 작물의 수세가 좋지 않음. 황화, 시들음병, 탄저병 등의 병해가 만연함. 농가를 방문하여 주기적으로 작물 상태를 관찰하며 일주일 간격으로 지속적인 관주를 부탁드렸으며 토양분석 실시함.



토양 분석 결과 : 고온으로 인해 선충의 세가 강해졌으며 희석배수에 따른 차이는 있었으나 유의적인 결과는 아니었음

2020.09.03.



작물생육이 많이 좋아진 모습을 보임. 주기적인 제품 사용으로 인한 효과로 시들음 증상이 해결되었으며 무치리구에 비해 작물의 생육이 좋았음



무처리구



처리구

※현장 포장 실험 결과

희석 배수	포장1			포장2			무처리		
	1반복	2반복	3반복	1반복	2반복	3반복	1반복	2반복	3반복
1000배	132	125	188	201	148	146	275	320	300
선충평균	128.5		불인정	불인정	147		불인정	310	
방제가	55.7 b	58.1 a	36.9	32.6	50.3 b	51.0 a	-	2.3 a	

유기농 고추 시설 재배 농가에 토양 관주 처리 방법으로 3반복 살포하여 선충 방제가를 확인한 결과 포장 1에서는 1반복과 2반복 각각 55.7, 58.1% 방제가를 보였으나 3반복에서는 36.9%의 방제가를 보여 실험 오차로 인정하여 포장1은 평균 방제가 56.9%의 선충 방제가로 최종 확인되었다. 포장 2는 1반복은 32.6%의 방제가를 보이지만 2반복과 3반복은 각각 50.3, 51.0% 방제가를 보여 1반복을 실험 오차로 인정하고 나머지 2개 실험구의 평균 방제가를 산출한 결과 50.7%를 얻었다. 포장2에 비해 포장1의 선충 방제가가 5~7% 높은 것으로 나타났으며 무처리 대비 유의성 검정 결과 유의성 없음으로 나타나 미생물 처리 효과가 있는 것으로 나타났다.

(2)멜론하우스 포장실험 결과 보고서

작물명	멜론
소재지	강원도 양구군 양구읍 (멜론단동하우스)
임대기간	2020.07.01 ~ 2020.10.31



2020.07.02.

시설 내부 시들음증상이 심각한 상황. 시들음증상은 선충피해의 대표적인 사례. 토양채취



토양 분석 결과 : 식물기생성 선충이 다수 관찰 됨.

2020.08.01.

농가를 방문하여 주기적으로 작물 상태를 관찰하며 일주일 간격으로 지속적인 관주를 부탁 드림. 시들음 증상과 황화현상 잎말림 현상이 시설 내부 곳곳이 산발적으로 발생하였고 고온으로 인해 작물이 위축된 상태. 처리구와 비교했을 때 무처리구의 작물 위축이 심했음.





무처리구



처리구

토양 분석 결과 : 무처리구는 활동력이 좋은 기생선 선충의 다수 발견되었으나 처리구는 선충의 사체 및 활동이 둔화된 선충을 확인함

2020.09.20.



2020년 8월 1일



2020년 9월 20일

일주일 간격의 주기적인 관주처리로 이전에 비해 수세가 눈에 띄게 회복된 것을 확인. 희석배수에 따른 유의적인 차이는 없어 희석배수 1000배 유지



1000배 관주



500배 관주

토양 분석 결과 : 500배 관주한 처리구의 선충의 수가 조금 적었으나 유의적인 차이는 아님.

※현장 포장 실험 결과

희석 배수	포장1			포장2			무처리		
	1반복	2반복	3반복	1반복	2반복	3반복	1반복	2반복	3반복
1000배	150	142	179	198	156	166	255	325	399
선충평균	164	불인정	164	불인정	156	156	200		불인정
방제가	56.6 b	40.2	58.0 a	30.6	52.2 b	53.4 a	25 a	1.9 b	-

유기농 멜론 시설 재배 농가에 토양 관주 처리 방법으로 3반복 살포하여 선충 방제가를 확인한 결과 포장 1에서는 1반복과 3반복 각각 56.6, 58.0% 방제가를 보였으나 2반복에서는 40.2%의 방제가를 보여 실험 오차로 인정하여 포장1은 평균 방제가 57.3%의 선충 방제가로 최종 확인되었다. 포장 2는 1반복은 30.6%의 방제가를 보인 반면 2반복과 3반복은 각각 52.2, 53.4% 방제가를 보여 1반복을 실험 오차로 인정하고 나머지 2개 실험구의 평균 방제가를 산출한 결과 52.8%를 얻었다. 포장2에 비해 포장1의 선충 방제가가 3~5% 높은 것으로 나타났으며 무처리 대비 유의성 검정 결과 유의성 없음으로 나타나 미생물 처리 효과가 있는 것으로 나타났다.

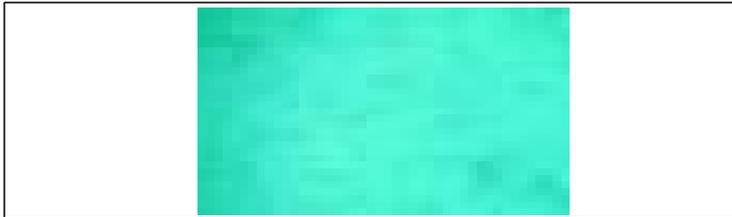
(3)토마토하우스 포장실험 결과 보고서

작물명	토마토
소재지	강원도 양구군 동면(토마토단동하우스)
임대기간	2020.07.01 ~ 2020.10.31



2020.07.01.

바이러스 병으로 보이는 잎말림 현상과 시들음 증상이 많이 보임. 선철이를 관주처리 하였고 희석배수에 따른 결과를 비교하기 위하여 정량 1000배와 배량 500배를 동시에 진행하였음. 토양 채취(토양분석 실시)

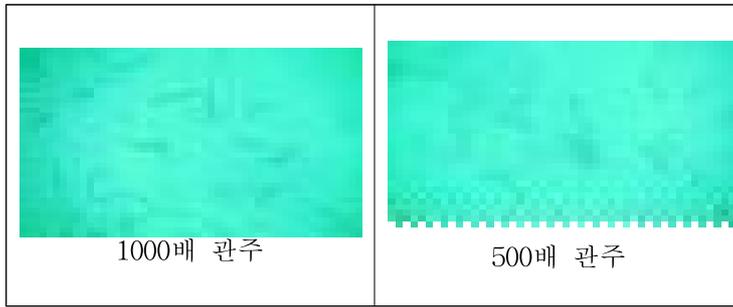


토양 분석 결과 : 식물기생성 선충이 다수 관찰 됨.

2020.08.01.

고온기가 되어 작물의 수세가 좋지 않음. 시들음 증상과 잎말림 증상, 황화현상이 심함. 농가에 일주일 간격으로 지속적인 관주를 부탁드렸으며 토양분석 실시함.





토양 분석 결과 : 선충의 세가 강해졌으며 회석배수에 따른 차이는 있었으나 유의적인 결과는 아니었음

020.08.20.

토마토 과실의 상태나 수확량이 무처리구에 비해 처리구가 크거나 색깔 면에서 우수함. 잎 말림 현상은 아직 조금 존재하나 작물의 생육에는 문제가 없었음. 수확기라 하단의 말림이 심한 일부터 정리해줌.



2020.09.03.

바이러스병이 만연하여 작물에 피해를 주고 있었음. 선충의 1차 가해로 인한 물리적인 피해와 더불어 2차 피해의 양상인 바이러스병의 매개가 원인으로 추정해 볼 수 있음.



2020.09.15.

작물생육이 많이 좋아진 모습을 보임. 일주일 간격의 선철이 관주로 인해 시들음 증상이 다소 해결되었으며 무처리구에 비해 작물의 생육이 좋았음.



※현장 포장 실험 결과

희석 배수	포장1			포장2			무처리		
	1반복	2반복	3반복	1반복	2반복	3반복	1반복	2반복	3반복
1000배	138	199	128	150	148	186	275	320	290
선충평균	133	불인정	133	149		불인정	282.5	불인정	282.5
방제가	54.3 b	36.9	58.9 a	49.6 a	50.3 b	32.6	25 a	-	2.2 b

유기농 토마토 시설 재배 농가에 토양 관주 처리 방법으로 3반복 살포하여 선충 방제가를 확인한 결과 포장 1에서는 1반복과 3반복 각각 54.3, 58.9% 방제가를 보였으나 2반복에서는 36.9%의 방제가를 보여 실험 오차로 인정하여 포장1은 평균 방제가 56.9%의 선충 방제가로 최종 확인되었다. 포장 2는 3반복은 32.6%의 방제가를 보인 반면 1반복과 2반복은 각각 49.6, 50.3% 방제가를 보여 3반복을 실험 오차로 인정, 나머지 2개 실험구의 평균 방제가를 산출한 결과 49.9%를 얻었다. 포장2에 비해 포장1의 선충 방제가가 4~8% 높은 것으로 나타났으며 무처리 대비 유의성 검정 결과 유의성 없음으로 나타나 미생물 처리 효과가 있는 것으로 나타났다.

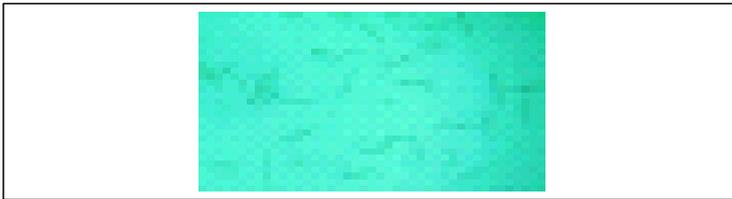
(4)오이하우스 포장실험 결과 보고서

작물명	오이
소재지	강원도 양구군 양구읍(오이단동하우스)
임대기간	2020.07.01 ~ 2020.10.31



2020.07.01

노균병과 바이러스 피해가 발견됨. 선충피해의 대표증상인 시들음 증상 발견됨. 토양을 채취하였으며 동시에 선충이를 관주처리 하였음. 희석배수에 따른 결과를 비교하기 위하여 정량 1000배와 배량 500배를 동시에 진행하였음. 토양 채취(토양분석 실시)

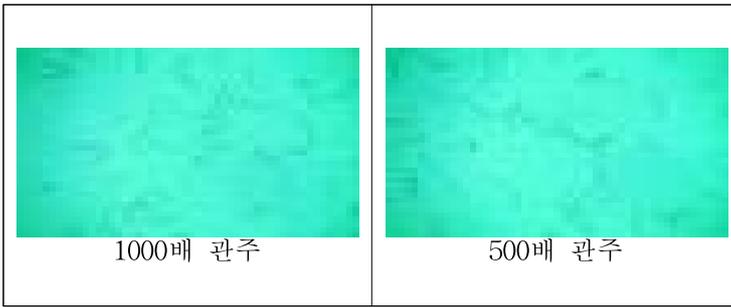


토양 분석 결과 : 식물기생성 선충이 관찰 됨.

2020.08.01



고온기가 되면서 선충의 활동이 활발해져 피해가 더욱 심해짐. 잎의 바이러스 피해가 심함  
일주일 간격의 지속적인 관주 필요. 토양분석 실시함.



토양 분석 결과 : 다수의 선충을 확인할 수 있었으며 희석배수에 따른 차이는 있었으나 유의적인 결과는 아니었음

2020.08.20.



잎의 피해와 더불어 오이에도 피해가 발견되었으며 선철이 와 함께 충해방제제를 동시에 사용하였음 .



2020.09.03

작물생육이 많이 좋아진 모습을 보임. 잎의 피해는 상당수 회복하였으나 시들음 증상은 여전히 무처리구에 비해 처리구 작물의 생육이 다소 좋았음

2020.09.28.



지속적인 관주와 관리로 수세가 회복되었으며 시들음 증상 해소 및 작물생육이 크게 좋아진 것을 확인할 수 있었다.



토양 분석 결과 : 죽은 선충이 대부분이었으며 살아 있는 선충의 활동성도 많이 저하되었다.

※현장 포장 실험 결과

희석 배수	포장1			포장2			무처리		
	1반복	2반복	3반복	1반복	2반복	3반복	1반복	2반복	3반복
1000배	138	129	190	188	138	126	300	310	312
선충평균	133.5		불인정	불인정	132		불인정	311	
방제가	54.5 b	56.1 a	35.8	31.6	51 b	52.5 a	-	2.5 a	2.49 b

유기농 오이 시설 재배 농가에 토양 관주 처리 방법으로 3반복 살포하여 선충 방제가를 확인한 결과 포장 1에서는 1반복과 2반복 각각 54.5, 56.1% 방제가를 보였으나 3반복에서는 35.8%의 방제가를 보여 실험 오차로 인정하여 포장1은 평균 방제가 55.3%의 선충 방제가로 최종 확인되었다. 포장 2는 1반복은 31.6%의 방제가를 보인 반면 2반복과 3반복은 각각 51, 52.5% 방제가를 보여 1반복을 실험 오차로 인정하고 나머지 2개 실험구의 평균 방제가를 산출한 결과 51.75%를 얻었다. 포장2에 비해 포장1의 선충 방제가가 3% 높은 것으로 나타났으며 무처리 대비 유의성 검정 결과 유의성 없음으로 나타나 미생물 처리 효과가 있는 것으로 나타났다.



(5) 외부기관에서의 시험

연구소의 실내 포트 시험과 현장 실증실험을 통하여 해당 제품의 성능을 확인할 수 있었으나, 자체 시험 결과이므로, 이를 객관적으로 방제가 및 작물생육 증진 효과가 있는지를 확인 받기 위하여 수원대학교 바이오산업연구소를 통하여 선충방제가를, (주)현농을 통하여 작물재배 시험을 진행하였다.

(가)선충방제가 시험



수원대학교 바이오산업연구소

www.suwon.ac.kr

18323 경기 화성시

접수번호 17051811

미생물 분석 성적

의뢰처	상호	고려바이오 연구소
	주소	
	시료명	선충 방제 시료(선철이)
	접수일	2020년 11월 17일

분석 결과

분석항목	분석결과		방제가	비교
선충밀도분석	30	35 (average)	77.12%	선철이 3반복 측정
	35			
	40			
	145	153 (average)		무처리 3반복 측정
	155			
	160			

• 분석방법 : 토마토 작물(포트재배)에 선철이 1,000배 희석액 200ml를 7일 간격 3회, 상포 후 선충 밀도 분석. 선충 분석 방법은 깔대기 방법으로 선충 분리

2020년 12월 22일



수원대학교 바이오산업연구소



위의 분석결과는 귀 기관에서 분석의뢰하신 시료에 대한 분석결과이며, 업무 참고 자료 이외의 상업적인 광고 및 법적인 해결 수단으로 사용할 수 없습니다

(나) 작물재배 시험

## 제 출 문

시험 제목 : 선철이 제품에 대한 작물재배시험

시험기관

명 칭 : (주)현농기업부설 연구소

소재지 : 충청남도 아산시 둔포읍 둔포1로 111-1  
현농기업부설 연구소 2층 202호

시험책임자 : 한 송 희

연락처 : 051-830-1111 (내선 202호) / 010-5300-1111  
이메일 : hns@hyunong.com

본 시험에 사용된 시험기준과 방법은 다음과 같다.

1. 농림축산식품부 소관 친환경농어업 육성 및 유기식품 등의 관리·지원에 관한 법률 시행규칙

본 보고서에 기술된 시험과정은 시험책임자의 책임 하에 수행되었고, 시험설계서와 위의 기준을 준수하여 실시하였으며, 시험결과는 모든 시험기초자료를 토대로 작성 되었다.

시험 책임자

날짜

한 송 희 (서명)

2020. 11. 30

(주)현농 기업부설연구소장 (직인)



HYUNONG

시험 보고서			
제목	고려바이오연구소 제품에 대한 작물재배시험		
제품명	선철이	분석 의뢰인	고려바이오연구소
주소	충청남도 천안시 동남구 현충1로 111		
전화	041-229-1111	용도	제출용
<p>2020년 11월 30일</p> <p>(주) 현농 기업부설연구소</p> 			

HYUNNONG

가. 시험 목적

고려바이오연구소 의뢰 제품 선철이에 대해 공시작물인 배추를 대상으로 비효 및 비해를 검토하여 제품의 효능을 검정하고자 함.

나. 시험기간

시료 의뢰일: 2020년 7월 6일

시험 종료일: 2020년 11월 4일

시험 보고서 작성일: 2020년 11월 10일

다. 시험장소

전남 나주시 [redacted]

라. 공시작물 : 배추 (휘모리)

마. 공시제제 : 고려바이오연구소 제품 선철이

바. 시험 내용

(가) 시험구 배치 : 난괴법 3반복

\*비효 및 비해 : 무처리구, 처리구 정량, 처리구 배량, 대조구 총 4개의 처리구로 3반복 실시, 총 12개 처리구

(나) 시험구 면적 : 구당 20m<sup>2</sup>, 총 240m<sup>2</sup>

(다) 실험 방법

\* 공시시료 처리방법 :작물 생육 중 7일 간격 3회 토양관주처리

- 공시시료 처리 정량 (1000배 희석)

- 공시시료 처리 배량 (500배 희석)

\*대조구 바이오스트롱(바실러스)

(라) 조사 항목

(1). 시험전후 토양 분석

토성, pH(1:5), EC(dS/m), CEC(cmol+/kg), 유기물(g/kg), 유효인산(mg/kg), 치환성칼륨(cmol+/kg), 치환성칼슘(cmol+/kg), 치환성마그네슘(cmol+/kg), 질소전량(g/kg)

(2) 작물생육 및 수량조사

\* 생육조사 : 엽장, 엽폭



\* 수량조사 : 생체중, 건물중

(3) 비해 조사 : 공시시료 3회 처리 후 7일 간격 3회 조사

\* 비해조사기준

비해정도	비해증상
0	육안으로 비해가 인정되지 않음
1	아주 가벼운 비해로서 작은 약반이 약간 인정됨
2	처리된 잎이 적은 부분에 비해가 인정됨
3	처리된 잎의 50%정도 비해가 인정됨
4	상당한 피해를 받고 있으나 아직 건전한 부분이 남아있음
5	심한 피해를 받고 고사상태임

(마) 통계분석 : 통계분석은 Duncan's multiple range test로 유의수준 95%로 분석하였다.

사. 시험 결과

(가) 공시시료 처리 및 조사 일시

Table 1. 공시시료 처리 및 조사 일시

시험 일정	처리일	비고
정식 일자	9월 2일	-
공시시료 처리	9월 7일	관주처리
공시시료 처리	9월 14일	관주처리
공시시료 처리	9월 21일	관주처리
1차 비해조사(7일)	9월 28일	육안으로 달관조사
2차 비해조사(14일)	10월 05일	육안으로 달관조사
3차 비해조사(21일)	10월 12일	육안으로 달관조사
수확기 생육 조사	11월 4일	엽장, 엽폭
수확기 수량 조사	11월 4일	생체중, 건물중



## (나) 생육 조사결과

Table 2. 생육량 조사 결과

처리구	엽폭		엽장	
	길이(cm)	지수(%)	길이(cm)	지수(%)
무처리구	17.5 <sup>a</sup>	100	26.4 <sup>a</sup>	100
추천구	19.4 <sup>b</sup>	110.9	30.2 <sup>b</sup>	114.4
배량구	19.6 <sup>b</sup>	113.4	30.3 <sup>b</sup>	114.8
대조구	19.5 <sup>b</sup>	111.5	30.3 <sup>b</sup>	114.8

\*DMRT at 5% level

## (다) 수확기 수량 조사

Table 3. 수확량 조사 결과

처리구	생체중		건물중	
	생체량(g)	지수(%)	건물량(g)	지수(%)
무처리구	211.3 <sup>a</sup>	100	82.4 <sup>a</sup>	100
추천구	258.9 <sup>b</sup>	122.5	95.8 <sup>b</sup>	116.3
배량구	269.0 <sup>b</sup>	127.3	98.9 <sup>b</sup>	120.0
대조구	260.1 <sup>b</sup>	123.1	96.2 <sup>b</sup>	116.7

\*DMRT at 5% level

## (라) 공시시료의 작물에 대한 비해 조사

공시시료의 처리에 의한 비해 발생 유무를 조사하기 위하여 공시시료 추천량과 배량을 배추를 대상으로 작물 비해 실험을 실시하였다. 생육장애 및 피해 증상을 달관조사를 통하여 분석하였으나 전 생육기간 동안 어떠한 처리구에서도 비해가 발생하지 않았다.

Table 4. 공시시료 처리 후 비해 조사

시험약제	조사회수	조사일자	비해정도 (0 ~ 5)		비 고
			기 준 량	배 량	
선철이	3	9월 28일	0	0	비해없음
		10월 05일	0	0	
		10월 12일	0	0	



마)공시시료 주성분 및 유해성분 검사

Table 5. 공시시료 및 대조구 주성분 및 유해성분 검사 (자체분석 결과)

성분명(단위)	공시시료	대조구
질소전량(%)	0.92	1.75
수용성 인산(%)	0.20	0.82
수용성 칼리(%)	0.35	1.37
수용성 규산(%)	0.001	0.06
수용성고토(%)	0.06	0.28
수용성붕소(%)	불검출	0.003
수용성몰리브덴(%)	불검출	불검출
수용성철(%)	0.001	0.009
비소(mg/kg)	불검출	불검출
카드뮴(mg/kg)	불검출	불검출
수은(mg/kg)	불검출	불검출
납(mg/kg)	불검출	불검출
크롬(mg/kg)	불검출	불검출

(바) 공시시료 처리구 토양의 이화학성 분석

Table 6. 공시시료 처리전후 토양의 이화학성상 분석

	처리전	공시시료 처리후	대조구 처리후
토성	양토	양토	양토
pH(1:5)	6.4	6.4	6.4
EC(dS/m)	2.1	2.1	2.1
CEC(cmol+/kg)	10.5	10.7	10.7
유기물 함량(g/kg)	18.2	18.7	18.8
유효 인산(mg/kg)	524.5	542.6	550.3
치환성 칼륨 (cmol+/kg)	0.8	0.9	0.9
치환성 칼슘 (cmol+/kg)	5.0	5.1	5.1
치환성 마그네슘 (cmol+/kg)	1.9	2.2	2.1
질소전량 (g/kg)	0.27	0.29	0.29



아. 결론

배추 생육 조사 결과 엽장은 무처리구에 비해 공시시료 추천구에서는 약 14.4%, 배량구는 약 14.8% 증가되었고, 엽폭 또한 추천구에서 약 10.9%, 배량구에서 약 13.4% 증가하였다. 공시시료 처리에 따른 수확량 조사 결과, 생체량은 무처리구와 비교하여 공시시료 처리구에서 추천구 22.5%, 배량구 27.3% 증가함을 보였다. 건물중을 비교하여도 무처리구에 비해 공시시료 처리구에서는 약 16.3%, 20.0% 증가함을 확인하였다. 공시시료를 추천량과 2배량으로 구분하여 비해 검정을 실시하였으나 무처리구와 비교하여 각각의 처리구에서 어떠한 비해 증상도 발견할 수 없었다.





### 3. 시제품의 이화학적 특성 연구

시제품에 대한 유기농업자재 목록공시를 진행하기 위하여 해당 제품에 대한 분석의뢰를 진행하였다. 유효성분 분석을 위하여 이화학적 성분분석을, 유해 성분분석을 위하여 322가지의 잔류농약 분석을, 약해에 대한 분석을 진행하기 위한 5가지 작물에 대한 농약 피해 분석을 강원대학교 친환경농산물안전성센터에 의뢰하였다.

#### 가. 주성분검사(이화학적분석)

(1)분석방법 : HPLC/UVD를 이용한 정량분석

(2)분석결과

발급번호 제 EFAP-20-0663-A-1 호						
<b>이화학적 분석성적서</b>						
분 석 년 월 일	2020. 07. 10.	제 조(수입)년월일 (Batch No.)	2020. 06. 22.			
시 험 책 임 자	소 속	(주)친환경농산물안전성센터	성 명	허 경 진		
분 석 의뢰자	(주)고려바이오연구소					
품 목 명	선철이					
유효성분의 명칭 및 함유량	Matrine					
분 석 결 과						
분석항목	분석회수	분석치(%)			분석방법	
1. 유효성분	1	0.404			HPLC/UVD를 이용한 정량 분석	
	2	0.405				
	3	0.404				
	평균치	0.404				
	표준편차	0.001				
2. 물리성	항목	검사결과				
	수화성	- 해당사항 없음 -				
	분말도	- 해당사항 없음 -				
3. 외관	성상	-	색상	-	냄새	-
4. 시험항목 (의뢰자 기재)						
첨부 자료 ○ 성적계산서 및 크로마토그램						
1) 본 성적서는 고객이 제공한 시료를 시험한 결과로써 전체제품에 대한 품질을 보증하지는 않음. 2) 본 성적서의 결과는 광고, 전단, 홍보 및 소송 등의 수단으로 사용하실 수 없음.						
2020 년 07 월 27 일						
(주)친환경농산물안전성센터						



## 다. 약해시험

(1)시험작물 : 당근(신혹전5촌), 상추(청치마), 오이(호동청장), 토마토(신러브리256), 호박(이향애)

## (2)처리방법

(가)시험물질은 포트 당 유식물 1주 정식 후, 기준량 및 배량 사용량에 따라 희석하여 분무 살포기로 경엽에 약제가 흐르지 않을 정도로 처리한다.

(나)시험물질의 평량은 기준량의 경우 시험물질 1,000배 희석액(20ml/20ℓ), 배량의 경우 500배 희석액(40ml/20ℓ)으로 한다.

처리구	시험물질 처리일 및 횟수	처리량
무처리	-	-
기준량	2020.07.17.(1회)	1,000배
배량	2020.07.17.(1회)	500배

## (다)시험결과

작물명	약제처리	농약피해(0~4)			증상
		3일(07/20)	5일(07/22)	7일(07/24)	
당근	무처리	-	-	-	-
	기준량	0	0	0	없음
	배량	0	0	0	없음
상추	무처리	-	-	-	-
	기준량	0	0	0	없음
	배량	0	0	0	없음
오이	무처리	-	-	-	-
	기준량	0	0	0	없음
	배량	0	0	0	없음
토마토	무처리	-	-	-	-
	기준량	0	0	0	없음
	배량	0	0	0	없음
호박	무처리	-	-	-	-
	기준량	0	0	0	없음
	배량	0	0	0	없음

① 당근 약해조사

시기	무처리	기준량	배량
처리 3일 후			
처리 5일 후			
처리 7일 후			

② 상추 약해조사

시기	무처리	기준량	배량
처리 3일 후			
처리 5일 후			
처리 7일 후			

③ 오이 약해조사

시기	무처리	기준량	배량
처리 3일 후			
처리 5일 후			
처리 7일 후			

④ 토마토 약해조사

시기	무처리	기준량	배량
처리 3일 후			
처리 5일 후			
처리 7일 후			

⑤ 호박 약해조사

시기	무처리	기준량	배량
처리 3일 후			
처리 5일 후			
처리 7일 후			

#### 4. 시제품 및 원료에 대한 안전성 연구

시제품에 대한 유기농업자재 목록공시를 진행하기 위하여 6가지(급성경구, 급성경피, 피부 자극성, 안점막자극성, 어류독성, 꿀벌독성)에 대한 시험분석 의뢰를 (주)한국생물안전성연구소에 의뢰하였다.

##### 가. 시험결과 요약

시험번호	시험항목	시험결과	비고
ATD -20038	피부자극	피부자극 없음	실험동물 : 토끼 (New Zealand White)
ATE -20038	안점막자극	안자극 없음	실험동물 : 토끼 (New Zealand White)
ATO -20042	경구독성	LD <sub>50</sub> 값: >2000 mg/kg bw. 급성독성 IV급(저독성)	실험동물 : SD랫드
ATP -20039	경피독성	LD <sub>50</sub> 값: >4000 mg/kg bw. 급성독성 IV급(저독성)	실험동물 : SD랫드
ETBC -20037	꿀벌접촉	24hr & 48hr LD <sub>50</sub> 값 > 100.000ug/Bee. 주원료 투입기준 100%	시험종 : 꿀벌 ( <i>Apis mellifera</i> )
ETF -20048	어류급성	48hr & 96hr LC <sub>50</sub> 값 > 100.0mg/L. 제품기준 100%(주원료의 투입기준 60%, 기준 60mg/L) 어독성 III급 (저독성)	시험어종 : 잉어 ( <i>Cyprinus carpio</i> )

##### 나. 시험 내용

###### (1) 피부자극(ATD-20038)

(가) 실험 동물 : SD랫드

(나) 투여약량 : 0.5mL

(다) 약제처리경로 및 처리방법

- ① 시험물질처리 24시간 전에 경배부(등부위)에 제모기를 이용하여 15x15cm 넓이로 제모하고, 2x3cm 크기의 거즈에 시험용액을 균일하게 묻힌 다음 제모된 부위에 고정시켰음
- ② 3개의 첩포를 순차적으로 적용하여 3분, 1시간, 4시간 후 패치제거
- ③ 관찰 : 시험물질 처리 후 72시간까지의 일반증상의 변화, 중독증상 및 치사동물의 유무 및 처리부분 홍반, 부종, 가피형성 유무 관찰

(라) 결과

- ① 일반중독증상 및 치사동물 : 일반 중독증상을 보이거나 치사한 개체가 발견되지 않음
- ② 체중변화 : 시험군의 모든 시험동물은 시간이 경과함에 따라 체중이 증가함
- ③ 피부반응 : 어떠한 피부반응도 관찰되지 않음. 자극성 없음

###### (2) 안점막자극(ATE-20038)

(가) 실험 동물 : 토끼(New zealand white)

(나) 투여약량 : 투여 개체별 0.1mL

(다) 투여방법

- ① 시험동물의 좌안의 하안검을 가볍게 잡아당겨 결막낭 내에 시험물질 0.1mL를 한번에 넣어 처리하고 시험물질의 손상을 막기 위해 양안검을 느슨하게 맞춰 잡고 약 1초간 유지
  - ② 초기시험에서 1마리의 동물을 사용하였으나 어떠한 눈 손상도 관찰되지 않아 이후 2마리의 동물을 사용하여 확인시험을 진행함.
- (라) 관찰 : 시험물질 처리 후 72시간까지 일반증상의 변화, 중독증상 및 치사동물의 유무, 체중 및 안반응 관찰
- (마) 결과
- ① 일반중독증상 및 치사동물 : 모든 시험동물에 있어서 중독증상을 보이거나 치사한 개체가 발견되지 않았음
  - ② 체중변화 : 시험군의 모든 시험동물은 시간이 경과함에 따라 체중이 증가함
  - ③ 안반응의 평가 : 어떠한 자극성 및 배출물이 관찰되지 않음

(3) 급성경구독성(ATO-20042)

- (가) 실험 동물 : SD랫드
- (나) 투여액량 : 2000mg/kg
- (다) 투여방법
- ① 투여개시 하룻밤 전부터, 시험물질 투여 후 3시간 동안은 먹이를 주지 않음
  - ② 투여경로 및 방법 : 랫드 경구투여용 존데(sonde)를 이용하여 경구투여 경로로 위내 1회에 한하여 강제투여
- (다) 관찰 : 처리 당일은 처리 후 30분, 1시간에서 4시간까지 매 시간마다 일반중독증상 및 치사수를 관찰. 익일부터는 매일 1회씩, 투여 개시 후 14일째까지 관찰 및 조사
- (라) 결과
- ① 일반중독증상 및 치사동물 : 시험 투여약량 2000mg/kg(한계투여약량)에서 중독증상을 보이거나 치사한 개체가 발견되지 않았음
  - ② 체중변화 : 시험군의 모든 시험동물은 시간이 경과함에 따라 체중이 증가함
  - ③ 부검소견 : 관찰 종료후 모든 단계의 시험동물은 CO<sub>2</sub> gas로 마취시켜 주요 장기에 대한 육안적 관찰을 시행한 결과 약제투여에 의한 특이한 이상증상은 관찰되지 않았음

(4) 급성경피독성(ATP-20039)

- (가) 실험 동물 : SD랫드
- (나) 시험약량 : 4000mg/kg
- (다) 시험물질 노출
- ① 시험물질처리 하루 전에 등부위에 제모기를 이용하여 5x6cm 크기로 제모하고 4x4cm 크기의 거즈에 시험용액을 균일하게 묻힌 다음 제모된 부위에 고정시켰음
  - ② 등부위에 도포시킨 시험물질은 24시간 후 제거
- (라) 관찰 : 처리 당일은 처리 후 30분, 1시간에서 4시간까지 매 시간마다 일반중독증상 및 치사수를 관찰. 익일부터는 매일 1회씩, 투여 개시 후 14일째까지 관찰 및 조사
- (마) 결과
- ① 일반중독증상 및 치사동물 : 시험 투여약량 4000mg/kg(한계투여약량)에서 중독증상을 보이거나 치사한 개체가 발견되지 않았음



② 체중변화 : 시험군의 모든 시험동물은 시간이 경과함에 따라 체중이 증가함

(5) 꿀벌급성접촉(ETBC-20037)

(가) 실험 동물 : 꿀벌(*Apis mellifera*)

(나) 시험약량 : 1 $\mu$ g/bee

(다) 시험물질 노출

① 케이지 안에 10마리씩 수용된 꿀벌들을 밀봉팩에 담아 CO<sub>2</sub> 로 마취시킨 후 여과지 위에 올려놓고 조제된 시험용액을 micro applicater를 사용하여 마취된 꿀벌의 흉부(등부 위)에 각각 1 $\mu$ L씩 처리

(라) 관찰 : 시험 물질 노출 후 4, 24시간 및 48시간 경과시에 중독증상 및 치사개체를 관찰. 치사개체의 판정은 육안으로 관찰하여 움직임이 없고 주사침을 이용하여 건드렸을 때 더듬이, 다리 및 몸통의 움직임이 중단된 경우 치사로 간주

(마) 결과

① 치사개체 및 중독증상 : 시험물질 노출 후 48시간동안 관찰한 결과 모든 처리군에서 치사 및 중독증상을 보인 개체가 관찰되지 않음

(6) 어류급성(ETF-20048)

(가) 실험 동물 : 잉어(*Cyprinus carpio*)

(나) 시험농도 : 100mg/L

(다) 처리방법

① 제품 100% 기준으로 100mg/L에서 치사개체가 관찰되지 않아 제품 100% 기준 100mg/L 단일농도로 재시험 실시. 잉어 10마리 노출시킴

(라) 관찰 : 시험생물 투입 후 3시간 및 24시간 간격으로 96시간까지 관찰 실시. 형태이상, 유영이상, 출혈 등의 중독증상과 치사 개체수를 관찰하였고, 치사어의 판정은 시험생물을 유리막대로 건드렸을 때 움직임이 없거나 아가미호흡이 중단된 경우 치사로 판정

(마) 결과

① 치사개체 및 이상증상 : 치사 및 어떤 중독증상도 관찰되지 않음

② 전장 및 체중변화 : 전장은 평균 3.42cm, 체중은 평균 0.53g 으로 측정됨

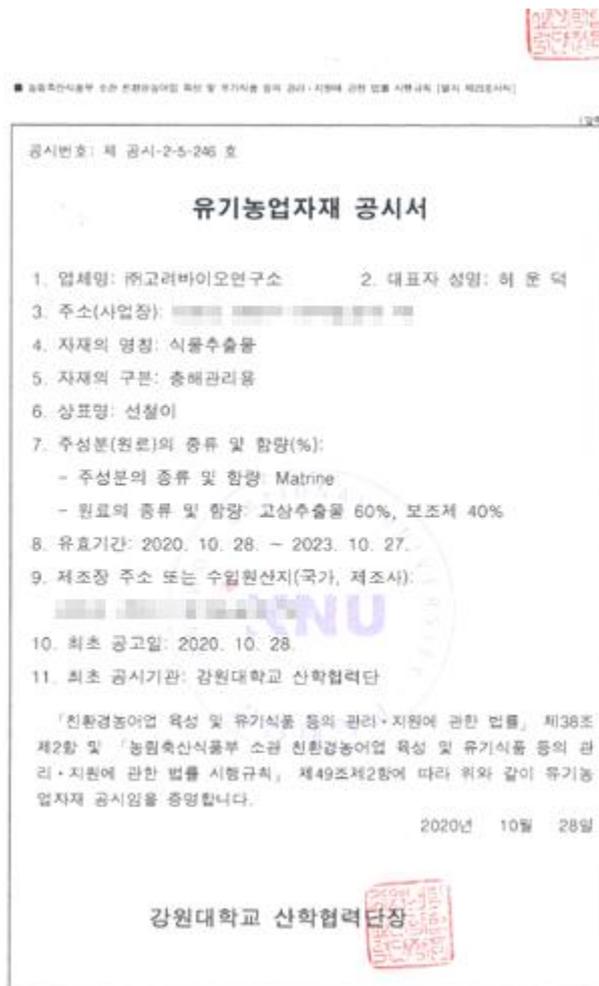
# 제 3 장 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

## 제 1 절 연구개발 성과

- 규산염백토와 기존 선철이의 배합을 도출
- 개선된 선철이의 희석배수 확인
- 객관적인 선충방제가 확인을 위한 외부기관에서의 선충방제가 시험
- 객관적인 생육증진효과 확인을 위한 외부기관에서의 작물재배 시험
- 현장 포장실증 실험
- 유기농업자재 목록공시 진행

### 1. 정성적 연구개발성과

- 친환경 유기농업자재 목록공시 등록
  - 공시번호 : 공시-2-5-245
  - 공시최초 공고일 : 2020.10.28
  - 공시 유효기간 : 2020.10.28. ~ 2023.10.27
  - 공시기관 : 강원대학교 산학협력단



## 2. 정량적 연구개발성과

## &lt; 정량적 연구개발성과표 &gt;

(단위 : 건, 명, 천원)

성과지표명		연도	1차년도 (2020~2021)	계	가중치 (%)
사업화	제품화	목표	1	1	20
		실적(누적)	1	1	20
	매출액	목표(단계별)	5,000	5,000	30
		실적(누적)	8,580	8,580	30
	고용창출	목표(단계별)	0	0	10
		실적(누적)	0	0	0
	기술인증 (유기농업자재목록공시)	목표(단계별)	1	1	30
		실적(누적)	1	1	30
연구기반지표	교육지도	목표(단계별)	2	2	10
		실적(누적)	0	0	0
계	목표(단계별)				100
	실적(누적)				80

## &lt; 연구개발성과 성능지표 &gt;

평가 항목 (주요성능)		목표치(a)	내용	실적치(b)	달성률(%)
1	약해시험(5작물)	0%	당근, 상추, 오이, 토마토, 호박에 대한 약해시험	0%	100
2	주성분	검출	주성분 Matriline 검출	0.404%	100
3	잔류농약	불검출	322가지 항목의 잔류농약 분석	불검출	100
4	독성시험	0%	급성경구독성, 급성경피 꿀벌독성 안점막 어독성 피부자극성 시험	0%	100
5	약효시험	50%	방제효과 검증	77.12%	100%

(가) 세부 정량적 연구개발성과

[기술적 성과]

□ 기술 및 제품 인증

번호	인증 분야	인증 기관	인증 내용		인증 획득일	국가명
			인증명	인증 번호		
1	유기농업자재 목록공시	강원대학교 친환경농산물 안전성센터	유기농업자재 목록공시	공시-2-5-246	2020.10.28	대한민국

[경제적 성과]

□ 시제품 제작

번호	시제품명	출시/제작일	제작 업체명	사용 장소	이용 분야
1	선철이	2020.06	(주)고려바이오연구소	실증실험 계약포장	농업

□ 사업화 현황

번호	사업화 방식	사업화 형태	지역	사업화명	내용	업체명	매출액		매출 발생 연도	기술 수명
							국내 (천원)	국외 (달러)		
1	자기설시	기존제품개선	국내	선철이	유기농업 자재	(주)고려바이오연구소	8,580		2021	



[시제품의 사업화]

□ 사업화 계획 및 무역 수지 개선 효과

성과					
사업화 계획	사업화 소요기간(년)	1년			
	소요예산(천원)	100			
	예상 매출규모(천원)	현재까지	3년 후	5년 후	
		8,580	50,000	100,000	
	시장 점유율	단위(%)	현재까지	3년 후	5년 후
			0	3	5
국내					
	국외				
향후 관련기술, 제품을 응용한 타 모델, 제품 개발계획					
무역 수지 개선 효과(천원)	수입대체(내수)	현재	3년 후	5년 후	
수출					

## □ 경제적 파급 효과

(단위: 천원/년)

구분	사업화명	수입 대체	수출 증대	매출 증대	생산성 향상	고용 창출 (인력 양성 수)	기타
해당 연도	선철이	-	-	10,000	-	2	
기대 목표		-	-	50,000	-	2	

## [사회적 성과]

## □ 전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	학위 취득 (석사)	2021		1			1						1

## 제 2 절 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○ 유기농업자재 목록공시 인증	○ 유기농업자재 목록공시 인증(2020.10.28)	○ 100
○ 선충 방제가 50% 이상	○ 선충방제가 77.12% 달성	○ 100
○ 작물 생육 10% 증가	○ 작물 생육 10% 이상 달성 (엽장 14.4%, 엽폭 10.9%, 생체량 22.5% 건물중 16.3%)	○ 100
○ 현장포장 실증시험(4포장)	○ 고추, 오이, 멜론, 토마토 하우스 4곳 실 증시험	○ 100
○ 이화학분석(주성분)	○ matrine 성분 검출	○ 100
○ 잔류농약 검사(322성분)	○ 잔류농약 불검출	○ 100
○ 약해시험(5작물)	○ 약해 피해 없음	○ 100
○ 독성시험(6항목)	○ 독성 피해 없음	○ 100
○ 시제품 제작	○ 배합률, 희석배수 확정 후 시제품 제작	○ 100

# 제 4 장 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

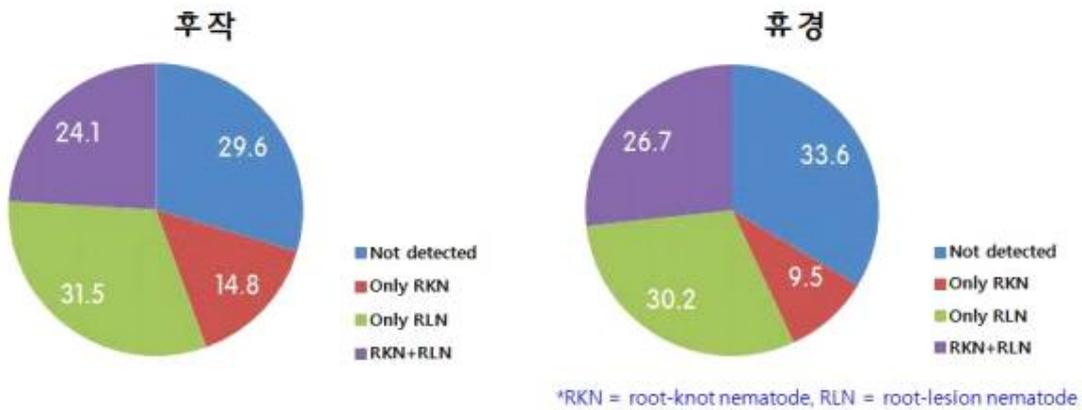
## 제 1 절 기대성과

### 1. 기술적 측면

- 선충의 직접적인 방제보다 작물의 뿌리의 발근을 유도하여 선충의 피해를 상쇄시키는 방향으로 진행되었던 기존의 선충방제제에서 벗어나 실제로 선충을 가해하는 미생물과 식물추출물의 합제를 통해 확실한 선충방제제 출시

### 2. 경제·산업적 측면

- 선충의 방제와 작물생육의 효과를 동시에 얻을 수 있어 사용 농가의 노동력 및 비용 절감 효과 기대



국립농업과학원에서 조사한 바에 의하면 후작 시 뿌리혹선충의 검출률이 휴경시보다 높은 것으로 나타났으나, 실제 해당 농가에서는 한정된 하우스의 수로 인하여 휴경을 하기 보다는 후작으로 다른 작물을 심는 것이 대부분이다.

구분	관행(2016)	녹비재배	태양열 태양소득
10a 당 총수입	20,242,871	20,242,871	20,242,871
- 수량	3,367	3,367	3,367
- 가격	5,990	5,990	5,990
10a 당 경영비	9,908,672	9,909,073	9,829,073
- 종묘비	2,227,008	2,307,008	2,227,008
- 무기질비료비	404,841	404,841	404,841
- 유기질비료비	213,841	213,841	213,841
- 농약비	328,617	249,017	249,017
- 기타재료비	1,758,850	1,758,850	1,758,850
- 고용노동비	1,692,267	1,692,267	1,692,267
<산출근거>			
- 종묘비 : 해외통상 2017(녹비종자 관급납품가-환율에 따른 변동 있음)			
- 농약비 : 2017년 농촌진흥청 농업과학기술 경제성 분석 기준자료집			

본사에서 개발한 제품을 사용하였을 때, 농약비와 기타재료비의 경감이 예상된다. 선충을 방제하는데 사용되는 농약의 비용과 피해 작물의 생육을 증진시키기 위해 사용되는 기타재료비(생장촉진, 전착제 등)가 이중으로 들어가는데 비하여, 본사의 제품을 사용하면 방제와 생육을 모두 증진시키기 때문에 비용이 이중으로 들어가는 문제를 해결할 수 있다.

구분	농업노동임금(1일)	
	남자(성인)	여자(성인)
2011	80,711	53,002
2012	85,482	56,519
2013	91,917	60,612
2014	96,777	64,099
2015	101,220	66,968
2016	105,510	69,874
2017	110,141	73,010

※ 농촌진흥청 농업과학기술 경제성 분석 기술자료집 참조

또한 당사의 제품은 한번에 방제와 생육 증진이 가능하여 약제를 살포하는데 여러 일에 걸쳐 진행하지 않아도 되므로, 방제제와 생육증진제를 따로 살포하기 위하여 여러 일에 걸쳐 작업을 진행하기에 임금 지급에서도 차이를 보여 노동력 및 생산비 감소에 영향을 끼친다.

- 선충 특성상 완벽한 방제가 어려워 피해를 감수하면서 작물 재배를 진행했던 농가에 방제 효과가 확실한 제품을 제공하여 단위면적당 수확량 증가

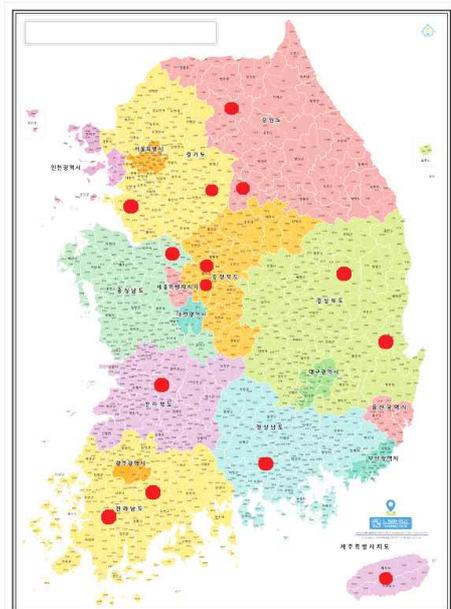
경상북도농업기술원에 의하면, 가지 시설배재지의 토양에서 가지 정식 시 뿌리혹선충 유충이 토양 100cm<sup>3</sup> 당 10마리이면 약 18%, 100cm<sup>3</sup> 당 400마리이면 수량이 약 42% 감소된다고 하며, 정식 시 100cm<sup>3</sup> 당 10마리인 경우 ha 당 약 440만원의 소득 손실이 초래된다고 하였다. 1ha당 주 1회 방제하여 4회 방제하는 것을 기준으로 선충이는 4병이 사용되며, 인건비를 포함하면 손실적 요소가 60만원으로 추정되며, 이익적인 요소는 ha당 18%정도의 수량감소로 인한 440만원의 손실을 방지한다고 할 때 추정 손익액은 ha당 약 380만원으로 예상된다.

- 유기농업자재 목록공시 등록으로 인한 소비자의 신뢰도 구축과 제도권 진입으로 인해 판매 시장의 확보. 공시번호가 부여되는 시기가 2020년 하반기로 제품이 사용될 시기와 맞지 않아 당해년도에는 큰 수익을 기대하기 어려우나 2020년 하반기부터 차재년도인 2021년 상반기에 공격적인 마케팅과 홍보활동으로 매출증대 확산

종료 1차년도 2.5억원으로 시작하여 종료 4차년도 약 8억 정도의 매출을 올릴 것으로 기대되며, 현재 당사에서 개발한 제품을 베트남에 수출 계획을 진행 중으로 이와 연계하여 추후 해외 수출도 가능할 것으로 예상된다.

- 전국 14개 총판을 통하여 전국적으로 다양한 환경과 작물에 적용하여 현장실증 및 각지의 피드백을 통한 차후의 제품개선 및 파생제품 연구 가능

- 특히 선충의 피해가 극심한 참외의 주산지인 경북 사업본부에서의 큰 매출 예상



## 제 2 절 파급효과

1. 선충방제제 시장의 제품 개발 방향의 변화할 것으로 보임. 단일 제제를 이용하여 방제하는 기존의 시장에 단일 제제로 방제와 생육을 모두 할 수 있는 형태의 제품을 선보임으로 새로운 제품 시장이 확대될 것으로 보임
2. 시설재배 농가의 친환경자재에 대한 인식 변화
3. 농약사용으로 심각한 지하수 오염이 야기되어 많은 토경재배농가들이 수경재배로 전환하는 추세임(수경재배 면적 2000년 763ha에서 2019년 3,696ha로 증대). 친환경자재인 본 제품은 환경에 전혀 해를 끼치지 않아 환경오염에 대한 문제가 발생하지 않음



## 제 5 장 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

### 제 1 절 연구개발 결과의 활용방안

1. 기술자료집 작성 : 선충방제가 시험, 작물생육증진효과 시험, 자체 포장시험 등의 자료를 기반으로 기술자료집 작성
2. 유기농업자재 목록공시 등록 : 목록공시 등록으로 인한 공시번호 부여로 친환경 농업시장 진출
3. 국내 농업전시회 참가 : 강원바이오엑스포 등
4. 시범포 운영으로 사용매뉴얼 교육 및 시연회 계획 : 현장 실증실험 및 시연회 진행
  - 토마토, 수박 등 시설재배 농가를 섭외하여 포장 실증시험 진행
5. 수요처 특성에 맞춘 유통전략 구축
  - 농협 : 계통계약 및 자체계약을 통해 농협자재판매장에 선철이 진출
  - 작목반 : 대규모 친환경작목반을 대상으로 제품 사업화진행 및 대량 공급
  - 직영대리점 : 3+1 , 4+1 등의 프로모션을 진행하여 대량 판매
  - 개별농가 : 토양선충분석 서비스로 농가의 토양 상태를 진단해주고 테스트 결과를 기반으로 선충방제제와 자사의 타 제품들 함께 처방
6. 유통단계 감소를 통한 농가부담 절감 : 제조사(본사) - 수요처(소비자)
7. PLS(Positive List System)법 시행으로 기존 농약사용이 금지된 상황으로 일반 관행농가의 친환경자재 수요 증가 예상

< 연구개발성과 활용계획표 >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내
국외논문	SCIE	매년 목표치
	비SCIE	
	계	
국내논문	SCIE	
	비SCIE	
	계	
특허출원	국내	
	국외	
	계	
특허등록	국내	
	국외	
	계	
인력양성	학사	
	석사	
	박사	
	계	
사업화	상품출시	1건
	기술이전	
	공정개발	
제품개발	시제품개발	1건
비임상시험 실시		
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상
		2상
		3상
	의료기기	
진료지침개발		
신의료기술개발		
성과홍보		
포상 및 수상실적		
정성적 성과 주요 내용		

※ 별첨 자료 (참고 문헌 등)

국립농산물품질관리원, 고시 제2017-33로(2017.06.03.) “ 유기농업자재 공시 및 품질인증 기준

농촌진흥청, 고시 제2017-25호 ”농약 및 원제의 등록기준“, [별표 12] 인축동성시험 기준과 방법(2017.10.17.)

농촌진흥청, 고시 제2017-28호 ”농약 및 원제의 등록기준“, [별표 13] 환경생물 독성시험 기준과 방법 (2017.10.17.)

농촌진흥청, ”2017 농업과학기술 경제성 분석 기준자료집“, 2017.10

농촌진흥청, ”주요 병해충·잡초 경제적 방제 수준 설정 및 피해 해석에 관한 연구(국책기술개발), 2011.02, 국립농업과학원

## 공인 인증기관 시험성적서

[첨부1]	작물 약해시험 성적서  ① 당근(신혹전5촌) 약해시험 ② 상추(청치마) 약해시험 ③ 오이(호동청장) 약해시험 ④ 토마토(신러브리256) 약해시험 ⑤ 호박(미향애) 약해시험
[첨부2]	인축 및 환경독성시험 성적서  ① New Zealand White계 토끼를 이용한 피부자극성시험 ② New Zealand White계 토끼를 이용한 안점막자극성시험 ③ 랫드를 이용한 급성경구독성시험 ④ 랫드를 이용한 급성경피독성시험 ⑤ 꿀벌( <i>Apis mellifera</i> ) 급성접촉독성시험 ⑥ 담수어류(잉어, <i>Cyprinus carpio</i> ) 급성독성시험

[첨부 1] 작물 약해시험 성적서

① 5작물(당근, 상추, 오이, 토마토, 호박)에 대한 농약피해 시험

선설이의 5작물(당근, 상추, 오이, 토마토, 호박)에 대한 농약피해 시험



시험기간 : 2020. 06. 26. - 2020. 07. 03.

시험의뢰인사명 : (주)고려바이오휘연구소

시험기관명 : (주)전원경농산물안전성센터



FFAP-20-0090-FH-004

의 해해조건 유래분류

차. 해해분리

① 시험편리는 생년월일 및 각종 계재와 작물명, 출자원 유리분실에서 1일 2회 이상 분급도를 확인하여 직업을 재확인한다.

② 연속성 계급 및 분급도에 따라 7월 1회까지 2회 분급으로 분급한다.

차. 대응자재 사용: 시험과정 중 다른 농약제는 사용하지 않는다.

기. 농약피해 조사는 시험물질 처리당분부터 7월(2일, 5일, 7일, 9일) 총 3회에 걸쳐 피분급-농약피해 여부를 분급조사 한다.

기. 농약피해에 대한 기준

정도	분 급 조 준
0	복합으로 농약피해(藥害)가 인정되지 않음
1	약수 3회분 농약피해(藥害)로서 다른 어떤의 약간 인정됨
2	화리도 일부 조부에서 농약피해(藥害)가 인정됨
3	처리된 일부 50%에서 정도 농약피해(藥害)가 인정됨
4	상당한 피해를 받고 있으나 회복 경향은 분명히 남아 있음

3. 시험결과

가. 처리 후 농약피해 조사 결과(5, 7월차)

작물명	선설이	농약피해(0~4)			농약피해 평균
		5월차(7/20)	7월차(7/30)	7월차(8/9)	
당 근	무처리	-	-	-	-
	기준량	0	0	0	0.00
	배 양	0	0	0	0.00
상 추	무처리	-	-	-	-
	기준량	0	0	0	0.00
	배 양	0	0	0	0.00
오 이	무처리	-	-	-	-
	기준량	0	0	0	0.00
	배 양	0	0	0	0.00
토 마 토	무처리	-	-	-	-
	기준량	0	0	0	0.00
	배 양	0	0	0	0.00
호 박	무처리	-	-	-	-
	기준량	0	0	0	0.00
	배 양	0	0	0	0.00

2011

FFAP-20-0090-FH-004

항목명: 선설이의 5작물에 대한 유기농업피해 농약피해 시험

- 시험기관: (주)전원경농산물안전성센터
- 시험년도: 2020년
- 담당자: 구준혁
- 시험일시(표준): 2020년 07월 03일
- 시험 개시일: 2020년 07월 17일
- 시험 종료일: 2020년 07월 24일
- △ 시약주소: 강원도원주군 차리읍농업연구소 2020년 07월 03일

1. 시험목적

본 시험은 (주)고려바이오휘연구소 선설이의 5작물(당근, 상추, 오이, 토마토, 호박)에 대한 농약피해 발생 여부를 평가하여 유기농업피해 유무 실험을 위한 자료로 활용하고자 한다.

2. 시험방법

가. 시험기간

① 국립농업진흥관리청 고시 제2019-05호(2019. 06. 17.) 유기농업피해 조사 기준

② 농촌진흥청 고시 제2019-20호(2019. 09. 02.) '오이' 및 '참깨' 품목기준

나. 시험물질: 선설이(경수명) 2020. 07. 14. 시료번호: FFAP-20-0590

다. 시험처분: 당근(신록한5종), 상추(상차리), 오이(호농잡종), 토마토(산과로리25A), 호박(미향애)

라. 시험작물 적용대상: 2~3엽기 유식물

마. 시험물질 처리방법

처리구	시험물질 처리일 및 횟수	처리량
무처리	-	-
기준량	2020. 07. 17. (1회)	1,000배
배 양	2020. 07. 17. (1회)	800배

\* 시험물질의 농량은 기준량의 경우 시험물질 1,000배 처리(10~100g), 배양액 경우 800배 농도에(40ml/20L)으로 한다.

바. 시험물질 처리방법

① 시험작물(당근, 상추, 호박, 토마토, 오이)의 정식용은 상원농촌진흥청 선설이 품종에서 50cm 모종부터(530×200×40mm)를 사용하며 자목하고 경다.

② 시험물질은 오이 당 유식물 1주 정식 후, 기준량 및 배양 사용일에 따라 처리하며 분무살포기로 살포에 적체가 없도록 함을 명도로 처리한다.

기. '시험구' 규모(또는 주수) 및 배치법

① 처리구 당 5묘목(1묘목 1주) × 3번(3열)배치법

② 보조구격: 차폭 100cm, 높이 90cm



2011

FFAP-20-0090-FH-004

15. 정렬처리 사진(2020. 07. 17)



16. 시험시행 처리

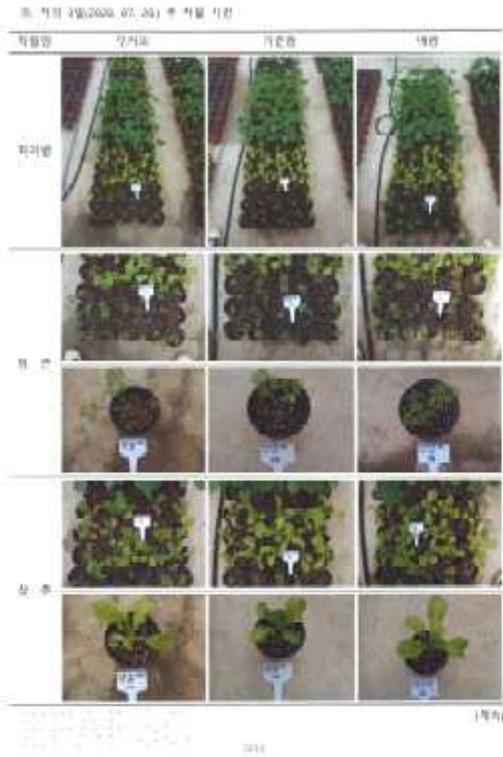


2020. 07. 03, 2020. 07. 22, 2020. 07. 24.

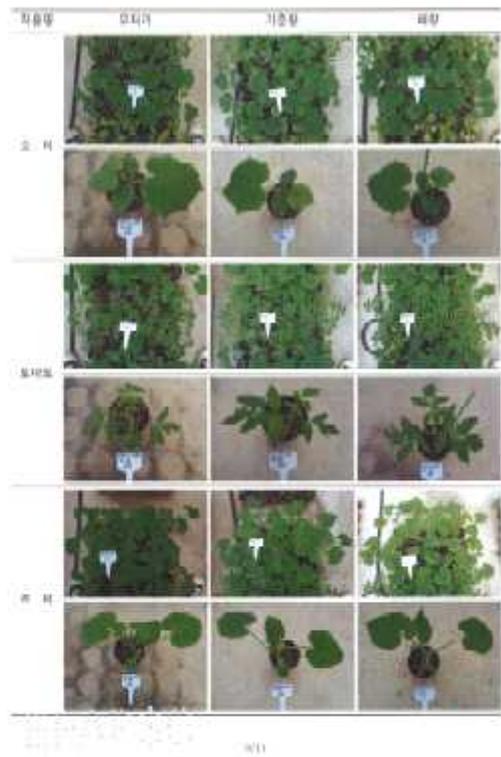


2011

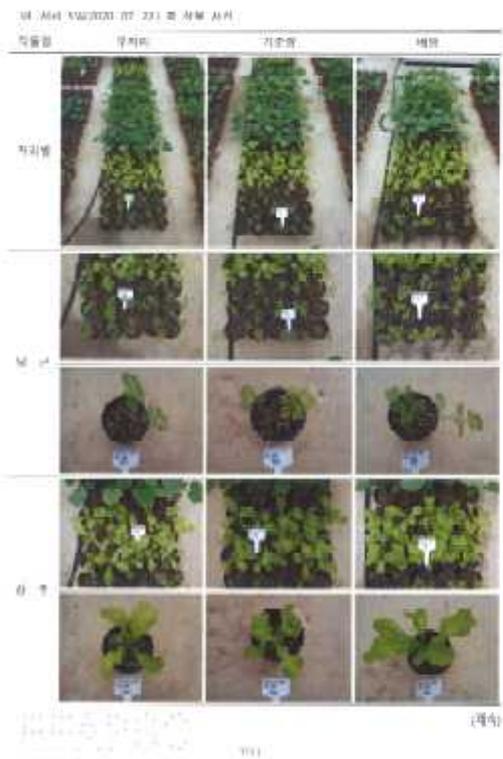
ETAP-20-0050-PH-004



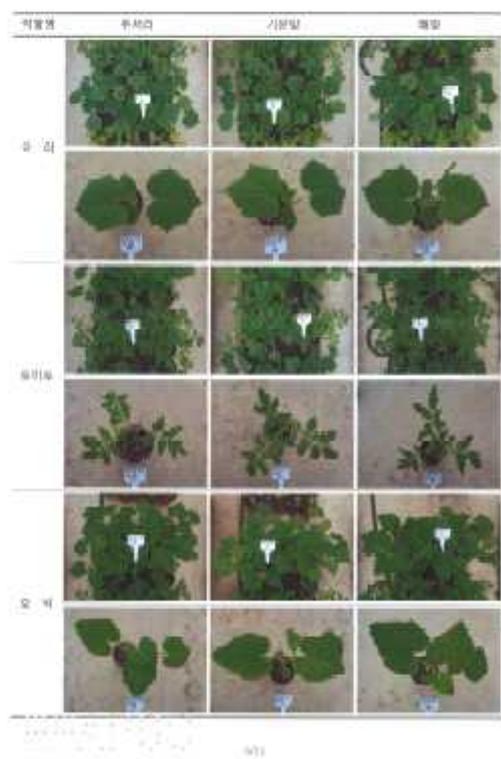
ETAP-20-0050-PH-004



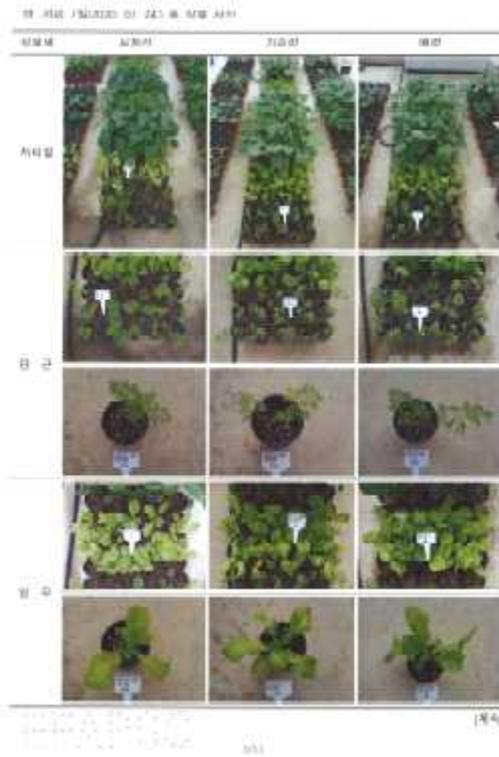
ETAP-20-0050-PH-004



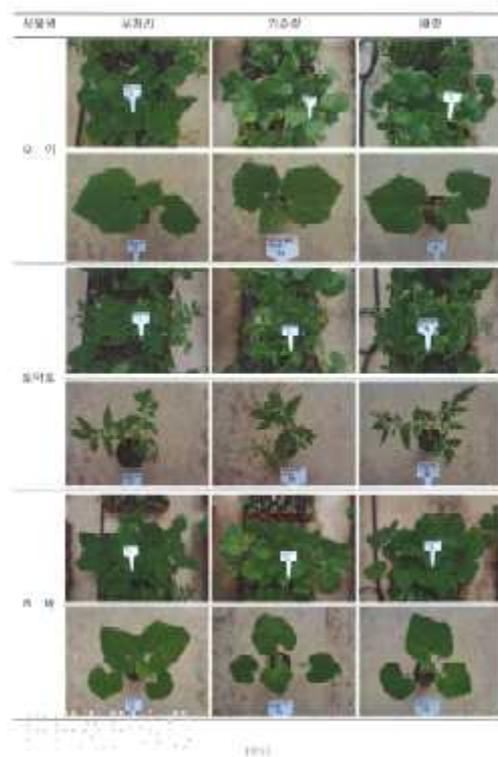
ETAP-20-0050-PH-004



ETAP-20-0690-F11-004



ETAP-20-0690-F11-004



ETAP-20-0690-F11-004

**4. 결과요약**

본 실험에 사용된 기온상 및 비교구(비교구)의 수확량은 본 실험에 사용된 기온상(비교구) 실험 결과에 비해, 조차의 피해는 발견되지 않았으며, 비교구와 기온상 및 해충을 비교하여도 농약 사용에 관한 안전 확인은 필요는 없었다.

**5. 시험당량차 의견**

시험본은 비교구 및 기온상 및 해충에서 농작물에 대한 부패한 농작물 수확이 없어 농작물 수확에 관한 안전 확인은 필요는 없다고 판단된다.

- 1) 본 보고서에 기술된 시험대상은 시험책임자의 책임 하에 수행되었으며, 위의 기준을 준수하여 실시하였음.
- 2) 본 보고서 기술 결과는 본 실험 결과에 대해 본 책임자에게
- 3) 본 보고서는 고령이 제공한 시험본 시험한 결과로써, 자체 보존 및 공공기관 제출용으로만 사용에 가능하며, 기타 사용 등의 수단으로 사용할 수 없음.

2021년 07월 27일

시험책임자 구순익

ETAP-20-0690-F11-004

2021

[첨부 2] 인축 및 환경독성시험 성적서

① New Zealand White계 토끼를 이용한 피부자극성시험

제 출 문

최종보고서

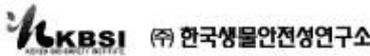
New Zealand White계 토끼를 이용한 선철이의  
피부자극성시험

ATD-20038

시험물질 : 선철이  
시험제목 : New Zealand White계 토끼를 이용한 선철이의 피부자극성시험

상기 특성시험을 "농약 및 원재의 등록기준" (별표 12) 인축독성시험 기준과 방법  
(농촌진흥청 고시 제2020-4호)에 준하여 실시하고 그 결과를 다음과 같이 제출합니다.

2020년 09월 14일  
대한국생물안전성연구소  
시험책임자 엄 지 영



Study No. : ATD-20038 Final Report

목 차  
[Contents]

보고서표지	1
제출문	2
목차 [Content]	3
1. 요약 [Summary]	5
2. 시험실시의 개요 [Introduction]	6
2.1. 시험제목	6
2.2. 시험물질	6
2.3. 시험목적	6
2.4. 시험방법	6
2.5. 시험의뢰자	6
2.6. 시험기관	6
2.7. 시험장소	6
2.8. 시험책임자	6
2.9. 시험준계자	7
2.10. 시험일정	7
2.11. 시험물질의 보관	7
2.12. 시험자료의 보관	7
3. 시험재료 및 방법 [Materials and Methods]	8
3.1. 시험물질	8
3.2. 시험동물	8
[표 1. 시험동물의 재출입일]	8
3.3. 사육환경 및 관리	9
3.4. 시험물질의 처리	9
4. 관찰 및 측정 [Observation and Determination]	10
4.1. 일반중독증상 및 지사	10
4.2. 체중측정	10
4.3. 처리부위 관찰	10
4.4. 피부반응의 평가 및 자극성의 판정	10
[표 2. 피부반응 평가표]	10
[표 3. 피부 1차 자극표]	11
5. 시험결과 [Results]	12
5.1. 일반중독증상 및 지사동물 수	12
5.2. 체중변화	12
5.3. 피부반응의 평가	12



Study No. : ATD-20038 Final Report

5.4. 자극성의 판정	12
6. 참고문헌 [References]	13
7. Tables	14
Table 1. Mortality and clinical signs	14
Table 2. Body weight changes	15
Table 3. Evaluation of skin irritation	16
Table 4. Calculation of mean value - 24, 48 and 72 hours	17





1. 요약 (Summary)

New Zealand White계 토끼를 이용한 신장이의 피부자극성시험을 수행하여 일반유제품인 자사수, 채유변질 및 피부자극성을 관찰 조사한 결과는 다음과 같다.

- 시험기간 중 시험동물의 50%에 기준인 2/3(계)에 관찰되지 않음.
- 피부자극 시험 시 시험동물이 2/3에 기준을 초과수준이 관찰되고 있음.
- 개체별 체중감소 시간이 경과함에 따라 증가수세를 보였다.
- 시험동물 제거 후 처리부의 국소자극성을 관찰한 결과, 피부자극이 관찰되지 않았다.

여상의 결과로부터 New Zealand White계 토끼를 이용한 시험동물의 피부 적어는 (표 3, 표부 1차 자극제)에 적어 자극성 없는 물질인 것으로 구분되었다.



2. 시험실시의 개요 (Introduction)

2.1. 시험목적  
New Zealand White계 토끼를 이용한 신장이의 피부자극성시험

2.2. 시험목적  
신장이

2.3. 시험목적  
토끼를 이용한 피부자극성시험을 통하여 유기농업자재 목적공시에 관한 기초자료로 활용하고자 한다.

2.4. 시험방법  
"농약 및 원재료 등록기준" (별표 1)에 언급된 시험 기준과 방법 (농촌진흥청 고시 제2020-4호) 중 12-1-4. 피부자극성 시험에 준하여 실시하였다.

2.5. 시험의뢰자  
명칭: R&D코리아오염연구소  
소재지: [Redacted]

2.6. 시험기관  
명칭: 대한민국생물안전성연구소  
소재지: [Redacted]  
연락처: [Redacted]

2.7. 시험장소  
명칭: 대한민국생물안전성연구소 동물실험실  
소재지: [Redacted]

2.8. 시험책임자  
성명: 윤지현  
소속: 대한민국생물안전성연구소 동물연구팀



2.9. 시험준비자  
시험동물의 조제: 박아름, 박우근  
시험동물의 조출: 박아름, 박우근  
관상/측정/평가: 박아름, 박우근  
동물사육관리: 박아름, 박우근

2.10. 시험일정  
동물 입수일: 2020년 07월 28일  
관상순회기간: 2020년 07월 28일 - 2020년 08월 03일  
2020년 07월 28일 - 2020년 08월 10일  
시험동물 계묘일: 2020년 08월 03일  
시험동물 처리일: 2020년 08월 30일  
2020년 08월 04일  
2020년 08월 11일  
일반중성관찰기간: 2020년 08월 04일 - 2020년 08월 07일  
2020년 08월 11일 - 2020년 08월 14일  
실험종료일: 2020년 08월 07일  
2020년 08월 14일  
최종보고서 제출일: 2020년 09월 14일

2.11. 시험동물의 보관  
본시험에 사용된 시험동물은 당 연구소 시험동물보관조에 보관하였다.  
시료번호: 20-1-057  
시험동물보관기간: 유기농업자재 공시 후 3년

2.12. 시험자료의 보관  
본시험의 시험기초자료 및 관계시험자료는 당 연구소 자료보관실에 보관하였다.  
시험번호: ATD-20038  
시험기초자료: 자료보관실  
최종보고서: 자료보관실  
자료해석디스크: 자료보관실  
자료보관기간: 유기농업자재 공시 후 3년  
사료관리담당자: 임병우, 최윤규



3. 시험재료 및 방법 (Materials and methods)

3.1. 시험동물  
3.1.1. 품종명: 신장이  
3.1.2. 입수일: 2020년 07월 16일  
3.1.3. 입수량: 100 마리  
3.1.4. 시료번호: 20-1-057  
3.1.5. 성상 및 위중: 개성, 양적  
3.1.6. 주원료: 고상주유물  
3.1.7. 수량률 투입비율: 60%  
3.1.8. 보관기간: 2년  
3.1.9. 공급원: R&D코리아오염연구소

3.2. 시험용물  
3.2.1. 시험계: 토끼 (New Zealand White계)  
3.2.2. 공급원: [Redacted]  
- 명칭: 한림실험동물연구소  
- 소재지: [Redacted]  
- 연락처: [Redacted]  
3.2.3. 시험재료의 선제사유  
농촌진흥청 고시 제2020-4호 언급된 시험 기준과 방법에 적혀진 것을 사용하도록 되어 있으며 New Zealand White계 토끼는 농약의 독성시험에 널리 사용되고 있어 기초자료가 충분히 축적되어 있으므로 시험결과 해석 및 평가가 용이하여 선제하였다.

3.2.4. 재용량  
[표 1. 시험동물의 재용량]

구분	입수 시 재용량 (g)	처리 시 재용량 (g)
시험동물	19 ~ 21	21 ~ 24

3.2.5. 순화 및 관측  
동물용 구입한 후 초기 및 확인시험으로 각각 7일, 14일 동안 동물실험실의 환경 하에서 순화시키면서 일반 건강상태를 관찰하여 건강한 개체만을 시험에 이용하였다.

3.2.6. 군관리  
계모를 실시하여 피부에 이상이 없는 동물만 선제하여 시험하였다.

3.2.7. 개체 식별  
사육 상자에 개체식별번호를 부착하여 식별하였다.



3.3. 사육환경 및 관리

- 3.3.1. 사육환경
  - 본 시험의 사육환경은 온도 20±3℃, 상대습도 50±20%, 환기시설 (급조기), 조명시간 12시간 (오전6시~오후8시) 및 조도 150~300 Lux의 실험실조건에서 사육과 음용수를 공급하며 순환 및 시험기간 동안 관리 사육하였다.
- 3.3.2. 사육상자
  - 순환 및 시험기간 중 stainless steel 사육상자 (380×490×345 mm)안에 넣어 사육하였다.
- 3.3.3. 사료 및 음용수
  - 사료는 토지농 펠렛사료 (Cargill Agri Purina Korea Inc.)를 자유 급식시켰으며 음용수는 청수일터 통과 및 자외선 살균된 지하수를 자유 섭취하였다.

3.4. 시험물질의 처리

- 3.4.1. 시험군의 구성
  - 실험동물은 건강하고 미인 동물로서 조기사험 1마리, 확인시험 2마리를 사용하였다.
- 3.4.2. 시험물질 조제
  - 시험물질이 액상으로 처리부위에 직접 처리할 수 없으므로 조제하지 않고 처리하였다.
- 3.4.3. 처리량 설정
  - 처리량은 처리 군별 공리 0.5 mL로 설정하였다.
- 3.4.4. 처리방법
  - 실험동물은 시험물질 처리 24시간 전에 전기면도기를 이용하여 경배부 (등 부위)의 털을 15×15 cm 넓이로 제외한 다음 건강하고 깨끗한 피부용 거친 동물면도를 사용하였다. 2×3 cm로 절개한 거즈를 이용하여 0.5 mL의 시험물질을 처리부위에 도포한 후 시험물질의 유실 및 방출을 방지하기 위해 비자극성태피오 (Tegaderm™, 3M)와 Coban™ (self-adherent wrap, 3M)으로 고정 및 유지시켜 시험물질이 경구 및 인접한 등 타 경부로 유입되지 않게 처리하였다. 대조부위는 정류수로 처리하여 처리부위와 증상군을 비교 용도로 활용하였다.
- 3.4.5. 시험물질의 제거
  - 조기사험은 3개의 시험물질 검출을 순차적으로 적용하며 각각 3분, 1시간, 4시간 후 태피오 제거하고 확인시험은 9일 전부터 4시간 노출 후 제거하여 피부에 묻은 잔여물질은 정류수로 세척하며 모두 제거한 후 피육용 탐지염으로 물기를 흡수시킨 다음 레이저에 넣어 두었다.



4. 관찰 및 측정 (Observation and determination)

4.1. 일반중독증상 및 처사

시험물질 처리 후 32시간까지 일반증상의 변화, 중독증상 및 치사동물의 유무를 관찰하였다.

4.2. 제충 측정

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

4.3. 처리부위 관찰

시험물질 도포 종료 후 1, 24, 48 및 72시간에 종반, 부종 및 가피형성 유무를 관찰하였고, 조기사험은 확인시험 여부를 평가하기 위해 각각 3분, 1시간, 4시간 후 접모를 제거한 뒤 피부 반응을 관찰하였다.

4.4. 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) 종반과 가피형성	
종반이 전혀 없음	0
약수 가벼운 종반 (육안으로 겨우 식별할 정도)	1
명확한 종반	2
중간정도부터 심한 종반	3
심한 종반과 유반을 평가할 수 있을 정도의 가피형성	4
총 가능한 종반과 가피 점수	
	4
2) 부종형성 판정	
부종이 전혀 없음	0
약수 가벼운 부종 (육안으로 겨우 식별할 정도)	1
가벼운 부종 (부딪히게 부어올라서 노출부위가 분명히 구별될 정도)	2
말단 정도의 부종 (척 1 mm 정도 부어올라 있음)	3
심한 부종 (1 mm 이상 부어올르고 노출부위 밖까지 확장된 상태)	4
총 가능한 부종 점수	
	4



[표 3. 피부 1차 자극표]

구분	판정기준
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 최대도 2마리에서 해당 부위에 해당할 경우 1단, 반응이 늦게 발현된 경우에는 피부 반응 발생 후 3일간을 연속평가) 2.3 × 종반 or 부종 평균값 < 4.0 ② 동물시험(3마리, 최대 4시간 노출 조건) 결과 적어도 2마리의 시험동물에서 동상 14일간의 관찰기간 종료까지 영문, 독서 (해면된 부위에 대한)모공, 각화증, 비후(부식), 피부극점화 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 1단, 반응이 늦게 발현된 경우에는 피부 반응 발생 후 3일간을 연속평가) 1.5 × 종반 or 부종 평균값 < 2.3
없음	관도이상 판정기준에 해당하지 않는 경우



5. 시험결과 (Results)

5.1. 일반중독증상 및 치사동물 수 (Table 1)

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

5.2. 제충변화 (Table 2)

시험물질 처리직전, 처리 후 48시간, 72시간에 개체별 제충을 측정하고 결과, 시간이 경과함에 따라 증가추세를 보였다.

5.3. 피부반응의 평가 (Table 3)

조기사험 시 동물에 각각 3분, 1시간, 4시간 후 접모를 제거한 뒤 피부 반응 관찰 시 증상이 관찰되지 않았다. 따라서 4시간 접모를 기준으로 시험물질 노출 종료 후 1, 24, 48 및 72시간에 [표 2. 피부반응 평가표]를 이용하여 피부반응을 관찰한 결과, 시험물질 처리 후 종반 및 부종 등의 어떠한 피부반응도 관찰되지 않았다. 이후 동일한 방법으로 확인시험을 진행하였으며 확인시험 또한 시험물질 처리 후 종반 및 부종 등의 어떠한 피부반응도 관찰되지 않았다.

5.4. 자극성의 판정 (Table 4)

조기사험과 확인시험을 [표 2. 피부반응 평가표]에 의해 개체별 평균값을 산출한 결과, 각 개체의 24, 48 및 72 시간의 종반 및 가피 부종의 평균점수 모두 "0.00" 이었고 [표 3. 피부 1차 자극표]에 의해 자극성을 구분하면 "없음" 이었다. 이상의 결과로부터 관찰되는 New Zealand White계 토지의 피부에 처리 시 자극성이 없는 물질로 구분되었다.



6. 참고문헌 [References]

- 농촌진흥청 고시 제2020-4호 「농약 및 원제의 등록기준」 (별표 12) 인축독성시험 기준과 방법, 12-1-4. 피부자극성 시험 (2020.02.28)
- 국립농산물관리원 고시 제2019-5호 「유기농업자재 공시 기준」 (2019.06.17)
- OECD Guideline for the Testing of Chemicals, No. 404 「Acute Dermal Irritation/Corrosion」 (Adopted : July 28, 2015)
- 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, Draize, J.H. (1959)

7. Tables

Table 1. Mortality and clinical signs

Number of animals	Days after treatment				Mortality
	0 (1hr)	1	2	3	
1	NOR <sup>a</sup>	NOR	NOR	NOR	0/3 <sup>b</sup>
2	NOR	NOR	NOR	NOR	
3	NOR	NOR	NOR	NOR	

a : Normal  
b : Number of dead animals/Number of tested animals

KBSI

KBSI

Table 2. Body weight changes

Number of animals	Days after treatment (g)				Gain
	0	2	3		
1	2146	2157	2188		42.0
2	2470	2480	2491		21.0
3	2256	2272	2289		33.0
Mean	2290.7	2303.0	2322.7		32.0
S.D. <sup>a</sup>	164.8	163.7	154.3		-

a : Standard Deviation

KBSI

Table 3. Evolution of skin irritation

Sites	Phases	Number of animals	Days after treatment			
			0 (1hr)	1	2	3
Control sites	Erythema & Eschar	1	0	0	0	0
		2	0	0	0	0
		3	0	0	0	0
	Edema	1	0	0	0	0
		2	0	0	0	0
		3	0	0	0	0
Test sites	Erythema & Eschar	1	0	0	0	0
		2	0	0	0	0
		3	0	0	0	0
	Edema	1	0	0	0	0
		2	0	0	0	0
		3	0	0	0	0

KBSI

Table 4. Calculation of mean value - 24, 48 and 72 hours

Number of animal	Erythema & Eschar	Edema
1	0.00	0.00
2	0.00	0.00
3	0.00	0.00

② New Zealand White계 토끼를 이용한 안점막자극성시험

Study No. : ATE-2003B Final Report

Study No. : ATE-2003B Final Report

최종보고서

New Zealand White계 토끼를 이용한 선철이의 안점막자극성시험

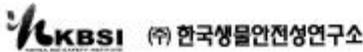
ATE-2003B

제 출 문

시험물질 : 선철이  
시험제목 : New Zealand White계 토끼를 이용한 선철이의 안점막자극성시험

상기 독성시험을 "농약 및 용제의 등록기준" (별표 12) 안점막자극성시험 기준과 방법 (농촌진흥청 고시 제2020-40)에 준하여 실시하고 그 결과를 다음과 같이 제출합니다.

2020년 09월 14일  
㈜한국생물안전성연구소  
시험책임자 명 지 영 



KBSI 3 page of 18



KBSI 3 page of 18

Study No. : ATE-2003B Final Report

Study No. : ATE-2003B Final Report

목 차  
[Contents]

보고서표지	1
제출문	2
목차 (Contents)	3
1. 요약 (Summary)	5
2. 시험설치의 개요 (Introduction)	6
2.1. 시험제목	6
2.2. 시험물질	6
2.3. 시험목적	6
2.4. 시험방법	6
2.5. 시험의원리	6
2.6. 시험기관	6
2.7. 시험장소	6
2.8. 시험책임자	6
2.9. 시험관계자	7
2.10. 시험일정	7
2.11. 시험물질의 보관	7
2.12. 시험자료의 보관	7
3. 시험재료 및 방법 (Materials and methods)	8
3.1. 시험물질	8
3.2. 시험동물	8
[표 1. 시험동물의 재량분류]	8
3.3. 사용환경 및 관리	9
3.4. 시험동물의 투여	9
[표 2. 시험군]	9
4. 관찰 및 측정 (Observation and determination)	10
4.1. 일반중독증상	10
4.2. 체중측정	10
4.3. 안안축의 평가	10
4.4. 자극성의 평가	10
[표 3. 안안축 평가표]	10
[표 4. 안안축 자극표]	11
5. 시험결과 (Results)	12
5.1. 일반중독증상 및 처사동물 수	12
5.2. 체중변화	12

5.3. 안안축의 평가	12
5.4. 자극성의 판정	12
6. 참고문헌 (References)	13
7. 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
Table 5. Calculation of mean value - 24, 48 and 72 hours	18



KBSI 3 page of 18



KBSI 3 page of 18

1. 요약 [Summary]

New Zealand White계 토끼를 이용한 인공적자극성시험을 수행하여 알만중독증상, 지사수, 체중변화 및 인공적 자극증상을 관찰조사한 결과는 다음과 같다.

- 시험물질 0.1 mL를 New Zealand White계 토끼에 투여한 결과 시험기간 중 알만중독증상 및 지사증상을 관찰하지 않았다.
- 체중측정결과 모든 개체에서 체중이 경과함에 따라 증가하였다.
- 시험물질 처리 후 24, 48 및 72시간의 체중을 평균값을 산출한 결과, 각 개체의 각각 순차, 총체중량의 평균증가는 모두 "0.00"이었고, 결막 발적 및 부종의 평균증상도 모두 "0.00"이었다.

이상의 결과, 인공적 자극성시험에서 비배척군의 자극성은 [표 4. 인공적 자극]에 의해 '실효'로도 부실했었다.



2. 시험실시의 개요 [Introduction]

- 2.1. 시험제목  
New Zealand White계 토끼를 이용한 인공적 자극성시험
- 2.2. 시험물질  
실효
- 2.3. 시험목적  
토끼를 이용한 인공적자극성시험을 통하여 유기농업자재 공사에 관한 기초자료로 활용코자 한다.
- 2.4. 시험방법  
"종약 및 관제약 등록기준" [별표 1.] 인공적자극성 시험과 방법 [총린현통령 고시 제2020-4호] 중 32-1-5. 인공적자극성시험에 준하여 실시하였다.
- 2.5. 시험의뢰자  
명칭 : ㈜고려바이오연구소  
소재지 : [redacted]
- 2.6. 시험기관  
명칭 : 한국생명안전성연구소  
소재지 : [redacted]  
연락처 : [redacted]
- 2.7. 시험장소  
명칭 : 한국생명안전성연구소 동물실험실  
소재지 : [redacted]
- 2.8. 시험책임자  
성명 : 임지영  
소속 : 한국생명안전성연구소 독성연구팀



- 2.9. 시험관계자  
시험물질의 소재 : 박아순, 박우근  
시험물질의 조출 : 박아순, 박우근  
관청/국정/평가 : 박아순, 박우근  
동물사육관리 : 박아순, 박우근
- 2.10. 시험일정  
총발급일 : 2020년 07월 28일  
경역순회기간 : 2020년 07월 28일 ~ 2020년 08월 03일  
2020년 07월 28일 ~ 2020년 08월 10일  
시험물질 처리일 : 2020년 08월 04일  
2020년 08월 11일  
일반항상관찰기간 : 2020년 08월 04일 ~ 2020년 08월 07일  
2020년 08월 11일 ~ 2020년 08월 14일  
실험종료일 : 2020년 08월 07일  
2020년 08월 14일  
최종보고서 제출일 : 2020년 09월 14일
- 2.11. 시험물질의 보관  
본시험에 사용된 시험물질은 당 연구소 시험물질보관고에 보관하였다.  
시료번호 : 20-1-057  
시험물질보관기간 : 유기농업자재 공시 후 2년
- 2.12. 시험자료의 보관  
본시험의 시험기초자료 및 관제시험성적서는 당 연구소 자료보관실에 보관하였다.  
시정번호 : ATE-2003F  
시험기초자료 : 자료보관실  
최종보고서 : 자료보관실  
자료해독디스크 : 자료보관실  
자료보관기간 : 유기농업자재 공시 후 2년  
자료관리담당자 : 임남수, 최윤규



3. 시험재료 및 방법 [Materials and methods]

- 3.1. 시험물질  
3.1.1. 물질명 : 실효  
3.1.2. 입수일 : 2020년 07월 16일  
3.1.3. 입수량 : 100 mL  
3.1.4. 시료번호 : 20-1-057  
3.1.5. 성분 및 외관 : 액상, 갈색  
3.1.6. 주원료 : 고상추출물  
3.1.7. 주원료 투입비율 : 60%  
3.1.8. 보관조건 : 건냉암소  
3.1.9. 공급원 : ㈜고려바이오연구소
- 3.2. 시험동물  
3.2.1. 시험계 : New Zealand White계 토끼  
3.2.2. 공급원 : 한국생명안전성연구소  
- 명칭 : [redacted]  
- 소재지 : [redacted]  
- 연락처 : [redacted]
- 3.2.3. 시험계의 선택사유  
농촌진흥청 고시 제2020-4호 인공적자극성 시험과 방법에 백색토끼를 사용하도록 되어 있으며 New Zealand White계 토끼는 인공적자극성시험에 널리 사용되고 있으며 본 계통에 대한 기초자료가 충분히 축적되어 있으므로 시험결과 해석 및 평가가 용이하여 선택하였다.
- 3.2.4. 제공능력  
[표 1. 시험동물의 제공능력]  

구 분	당수시 제공 (kg)	치리시 제공 (kg)
비배척군	1.6 ~ 2.1	2.0 ~ 2.2
- 3.2.5. 순차 및 관역  
동물용 구입한 후 초기 및 확인시험 각각 7일, 14일 동안 동물실험실의 환경 속에서 순차시키면서 일반 건강상태를 관찰하여 건강형 개체를 선발, 시험에 사용하였다.
- 3.2.6. 운임리  
시험동물은 시험물질 투여 24시간 전에 육안으로 양쪽 눈물 검사하여 눈물 이상이 없는 동물을 사용하였다.



- 3.2.7. 재제 식별  
사육 실험재 재제식별정보를 부착하여 식별하였다.
- 3.3. 사육환경 및 관리
  - 3.3.1. 사육환경  
본 시험의 사육환경은 온도 20±3°C, 상대습도 50±20%, 환기시율 (공조기계) 조영시간 12시간 (오전8시~오후8시) 및 조도 150~300 lux의 실험실조건에서 사육의 음용수를 급여하여 순화 및 시험기간 동안 격리 사육하였다.
  - 3.3.2. 사육 상자  
순화 및 시험기간 중 stainless steel 사육상자 (360×490×345 mm)안에 넣어 사육하였다.
  - 3.3.3. 사료 및 음용수  
사료는 토지농 팜렛사료 (Cangli Agri Purina Korea Inc.)를 자유 급식하였으며 음용수는 정수처리 통과 및 자외선 살균한 지하수를 자유 섭취하였다.

3.4. 시험물질의 투여

3.4.1. 시험군의 구성

[표 2. 시험군]

군	용량수	좌우구분	처리
비내과군	3	좌	시험물질
		우	투여치

- 3.4.2. 시험물질 조제  
시험물질이 액상으로 처리부위에 직접 처리할로 조제하지 않고 처리하였다.
- 3.4.3. 투여용 설정  
투여받은 투여 개체별로 0.1 mL로 설정하였다.
- 3.4.4. 투여방법  
초기 시험은 1마리의 동물을 사육하였는데 시험동물은 시험개시 전 24시간 이내에 해당으로 정액 눈물 검사하여 눈의 이상이 없는 동물로서 약제처리하는 피험자의 적당성을 가늠해 잡아당겨 결막낭 내에 시험물질 0.1 mL를 한 번에 넣어 처리하고 시험물질의 손실을 막기 위해 양안검을 느슨하게 맞춰 잡고 약 1초간 유지하였다. 무척리한 우연은 대조부위로 하여 처리부위의 손상관찰 비교 용도로 활용하였다. 초기 시험에서 어떠한 눈 손상도 관찰되지 않아 이후 2마리의 동물을 사육하여 확인 시험을 진행하였다.

4. 관찰 및 측정 (Observation and determination)

- 4.1. 일반중독증상  
시험물질 처리 후 72시간까지 일반중상의 변태, 동태증상 및 지사동물의 무리를 관찰하였다.
- 4.2. 체중 측정  
시험물질 처리직전과 처리 후 48, 72시간에 개체별 체중을 측정하였다.
- 4.3. 안방울 (眼淚)의 평가  
안방울의 양가는 [표 3. 안방울 평가표]에 따라 실시하였다. 시험물질 처리 후 1, 24, 48, 72시간에 각역종막, 홍채이상, 결막 발적, 부종, 배출물 등 증상을 기록하였다.
- 4.4. 자극성의 평가  
[표 3. 안방울 평가표]에 의해 개체별 자극정도를 평가하고 이 결과를 [표 4. 안방울 자극표]에 따라 자극성의 정도를 구분하였다.

[표 3. 안방울 평가표]

구분	항목	평가
안방울	· 눈의 농후한 정도(가장 농후한 자국을 관찰함)	0
	· 홍채이상 관찰여부	0
	· 결막이 분산 혹은 밀집되어 있으며(염색적인 투영성) 약간 둔화된 것과는 다른 홍채의 발단이 명확히 관찰됨	1
	· 분투양한 부분이 쉽게 관찰되면서 홍채의 발단이 약간 불명확함	2
안방울	· 간주출혈을 나타내면서 홍채의 발단이 관찰되지 않음, 동공의 크기가 가파르도록 증가됨	3
	· 식각이 불투명하고 홍채 바탕에 홍채가 관찰됨	4
	· 정상	0
	· 결막이 투명한 정상, 홍채, 홍채 혹은 적막부위에 중도의 출혈을 보여나 홍채가 눈에 대해 비주위	1
안방울	· 홍채가 눈에 대해 반응이 없거나 출혈 또는 대부분 비주위 상태	2

구분	항목	평가
안방울	· 방적(안정)액, 안구검역에 전염, 홍채 제외)	0
	· 결막 정상	0
	· 일부 양안 증상	1
	· 모든 심홍색을 띠거나 각각의 발단이 쉽게 관찰됨	2
안방울	· 모든 심홍색	3
	· 일부 심홍색	3
	· 눈의 안저 이상 징후의 양상의 정상	4
	· 눈의 안저 이상 징후의 양상의 정상	4

[표 4. 안방울 자극표]

구분	분류기준
중도	다음 어느 하나에 해당하는 동물 ① 피부 온도 자극성 불응 ② pH 2 이하 또는 pH 11.5 이상인 동물 ③ 최소한 1마리의 동물이 적막, 홍채 또는 결막에 대한 영향이 회복되지 않을 것이라 예상되거나 일반적으로 평균기간 21일 내에 완전히 회복되지 않는 경우 ④ 시험동물 3마리 중 최소한 2마리에서, 시험물질 주입 후 24, 48 및 72시간에서의 평균 점수로서 계산된 주치가 대조 기준에 어느 하나라도 해당되는 경우 ○ 적막 발현률 > 3 ○ 홍채 > 1.5
중도	다음 어느 하나에 해당하는 동물 ① 피부 온도 자극성 불응 ② 동물 시험결과 3마리 중 최소한 2마리에서, 어떤 기준에 어느 하나라도 해당되고, 관찰기간 21일 이내에 완전히 회복되는 경우 ○ 적막 발현률 > 1 ○ 홍채 점수 > 1 ○ 적막 발현률 > 2 ○ 결막 부종 점수 > 2
고도	중도 조건에 해당되는 자극성이 7 일 이내에 완전히 회복되는 경우
없음	중도 이상에 해당하지 않는 경우

5. 시험결과 (Results)

- 5.1. 일반중독증상 및 지사동물 수 (Table 1.)  
모든 시험동물에 있어서 어떠한 일반중상도 관찰되지 않았으며, 지사동물 또한 발견되지 않았다.
- 5.2. 체중변화 (Table 2)  
시험물질 처리직전, 처리 후 48, 72시간에 개체별 체중을 측정한 결과, 시간이 경과함에 따라 증가추세를 보였다.
- 5.3. 안방울의 평가 (Table 3)  
초기시험 후 어떠한 눈 손상도 관찰되지 않아 동일한 방법으로 확인시험을 진행하였다. 초기시험 및 확인시험의 안방울 평가 결과는 아래와 같다.  
비내과군-1 (초기시험)  
- 무처리 대조군인 무연에서는 어떠한 자극성도 관찰되지 않았다.  
- 1 시간째 관찰 시부터 72 시간째 관찰 시까지 시험물질 처리군에서 어떠한 자극성도 관찰되지 않았다.  
비내과군-2 (확인시험 1)  
- 무처리 대조군인 무연에서는 어떠한 자극성도 관찰되지 않았다.  
- 1 시간째 관찰 시부터 72 시간째 관찰 시까지 시험물질 처리군에서 어떠한 자극성도 관찰되지 않았다.  
비내과군-3 (확인시험 2)  
- 무처리 대조군인 무연에서는 어떠한 자극성도 관찰되지 않았다.  
- 1 시간째 관찰 시부터 72 시간째 관찰 시까지 시험물질 처리군에서 어떠한 자극성도 관찰되지 않았다.
- 5.4. 자극성의 판정 (Table 3)  
초기시험과 확인시험을 [표 3. 안방울 평가표]에 의해 24, 48 및 72시간의 개체별 평균점을 산출한 결과, 각 개체의 자극, 홍채이상, 결막의 발적 및 부종의 평균점수 모두 0으로 나타났다. 이차로 시험결과, New Zealand White 토끼를 지사동물 선정하여 안방울 자극성시험에서 자극성은 [표 4. 안방울 자극표]에 의해 "없음"으로 구분되었다.

6. 참고문헌 [References]

- 농촌진흥청 고시 제2020-49 「농약 및 원제의 등록기준」 (별표 12) 잔류독성시험 기준과 방법, 12-1-5. 잔류약사극성시험 (2020.02.20)
- 국립농산물품질관리원 고시 제2019-5호 「유기농업자재 공시 기준」 (2019.06.17)
- OECD Guideline for the Testing of Chemicals, No. 405 "Acute Eye Irritation/Corrosion," (Adopted : October 9, 2017)

7. Tables

Table 1. Mortality and clinical signs

Group	Number of animals	Days after application				Mortality
		0 (Day)	1	2	3	
No eye washed	1	NOR <sup>a</sup>	NOR	NOR	NOR	0/3 <sup>b</sup>
	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	2148	2170	2191	42.0
	2	2097	2128	2135	38.0
	3	2256	2313	2328	33.0
	Mean	2180.3	2201.0	2218.0	37.7
	SD <sup>a</sup>	103.7	130.2	88.3	-

a : Standard Deviation

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

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



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

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

Table 5. Calculation of mean value - 24, 48 and 72 hours

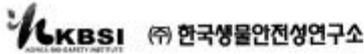
Number of animal	Corneal opacity : degree of density	Iris	Conjunctiva	
			Redness	Edema
1	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.00	0.00

③ 랫드를 이용한 급성경구독성시험

최종보고서

랫드를 이용한 선철이의 급성경구독성시험

ATO-20042



KBSI

K89

7 page of 17

제 출 문

시험물질 : 선철이
시험제목 : 랫드를 이용한 선철이의 급성경구독성시험

상기 독성시험을 "농약 및 원제의 등록기준" (별표 12) 연축독성시험 기준과 방법 (농촌진흥청 고시 제2020-429)에 준하여 실시하고 그 결과를 다음과 같이 제출합니다.

2020년 09월 14일
한국생물안전성연구소
시험책임자 엄지영

KBSI

K89

2 page of 17

목 차
[Contents]

Table of contents listing sections like 목 차, 보고서표지, 제출문, 요약, 1. 요약, 2. 시험설계의 개요, 2.1. 시험제목, 2.2. 시험물질, 2.3. 시험목적, 2.4. 시험방법, 2.5. 시험의뢰자, 2.6. 시험기관, 2.7. 시험장소, 2.8. 시험책임자, 2.9. 시험관계자, 2.10. 시험일정, 2.11. 시험물질의 보관, 2.12. 시험자료의 보관, 3. 시험재료 및 방법, 3.1. 시험물질, 3.2. 시험동물, 3.3. 시험동물의 구입 및 제공방법, 3.4. 사육환경 및 관리, 3.5. 시험동물의 무어, 4. 관찰 및 측정, 4.1. 일반중독증상 및 치사동물, 4.2. 폐종죽정, 4.3. 부검, 4.4. 번수치사약량 (LD50) 산출, 5. 시험결과, 5.1. 일반중독증상 및 치사동물, 5.2. 폐종죽정

KBSI

K89

3 page of 17

Table of contents listing sections like 5.3. 부검소견, 5.4. 번수치사약량 (LD50), 6. 참고문헌, 7. Tables, Table 1. Mortality and clinical signs, Table 2. Mean body weights, 8. Appendices, Appendix 1. Mortality of rats, Appendix 2. Clinical signs of rats, Appendix 3. Body weights, Appendix 4. Macroscopical findings necropsy

KBSI

K89

4 page of 17

1. 요약 [Summary]

뿔도를 이용한 선별이의 급성경구독성시험 (급성독성분류기준)을 2000 mg/kg BW의 투여 용량으로 수행하여 지시 수, 일반증상등심 및 채증변화를 관찰·조사한 결과는 다음과 같다.

- 1단계 투여약물 2000 mg/kg BW에서 14일 동안 지시개체가 관찰되지 않았다.
- 2단계 투여약물 2000 mg/kg BW에서도 14일 동안 지시개체가 관찰되지 않았다.
- 영준란 모은 개체에서 일반증상등심은 관찰되지 않았다.
- 각 개체의 채증은 적재후에 후 결과일수에 따라 증가하였다.
- 부검결과 이상 소견은 관찰되지 않았다.

여성의 시험결과, 뿔도를 이용한 선별이의 급성경구독성시험 결과, LD50값은 2000 mg/kg BW. 초과하여 농학관리법 시험규칙 (별표 3)의 농약 등의 독성 및 잔류성평도를 구분에 의거 IV급 (저독성)으로 구분되었다.



2. 시험실시의 개요 [Introduction]

2.1. 시험제목

뿔도를 이용한 선별이의 급성경구독성시험

2.2. 시험물질

선별이

2.3. 시험목적

뿔도를 이용한 선별이의 급성경구독성시험을 통하여 유기농업자재 공사에 관한 기초자료로 활용코자 한다.

2.4. 시험방법

"농약 및 원재의 등록기준" (별표 12) 등록독성시험 기준과 방법 (농촌진흥청 고시 제2020-4호) 중 12-1-20. 급성경구독성시험 (급성독성분류기준)에 준하여 실시하였다.

2.5. 시험의뢰자

명칭 한국기어연구소

소재지

2.6. 시험기관

명칭 한국생명안전성연구소

소재지

연락처

2.7. 시험장소

명칭 한국생명안전성연구소 동물실험실

소재지

2.8. 시험책임자

성명

소속

한국생명안전성연구소 특성연구팀



2.9. 시험관계자

시험물질의 조제 약이송, 박우근  
 시험물질의 농도 약이송, 박우근  
 관찰/측정/평가 약이송, 박우근  
 동물사육관리 약이송, 박우근

2.10. 시험일정

동물의수용 2020년 07월 20일 (6 female)  
 감작성화기간 2020년 07월 20일 ~ 2020년 08월 09일 (3 female)  
 2020년 07월 20일 ~ 2020년 08월 06일 (3 female)  
 시험물질 투여일 2020년 08월 04일 (3 female, 2000 mg/kg BW)  
 2020년 08월 07일 (3 female, 2000 mg/kg BW)  
 일반증상관찰기간 2020년 08월 04일 ~ 2020년 08월 18일 (2000 mg/kg BW)  
 2020년 08월 07일 ~ 2020년 08월 21일 (2000 mg/kg BW)  
 실험종료 / 부검일 2020년 08월 18일 (3 female, 2000 mg/kg BW)  
 2020년 08월 21일 (3 female, 2000 mg/kg BW)  
 최종보고서 제출일 2020년 09월 14일

2.11. 시험물질의 보관

본 시험에 사용한 시험물질은 당 연구소 시험물질 보관소에 보관하였다.  
 시료번호 25-1-057  
 시험물질보관기간 유기농업자재 공시 후 3년

2.12. 시험자료의 보관

본 시험의 시험기초자료 및 관계시험정서는 당 연구소 자료보관실에 보관하였다.  
 시험번호 ATO-20042  
 시험기초자료 자료보관실  
 최종보고서 자료보관실  
 채증하드디스크 자료보관실  
 자료보관기간 유기농업자재 공시 후 3년  
 자료관리담당자 임남수, 최윤규



3. 시험재료 및 방법 [Materials and Methods]

3.1. 시험물질

3.1.1. 물질명 선별이  
 3.1.2. 입수일 2020년 07월 16일  
 3.1.3. 입수량 100 mL  
 3.1.4. 시료번호 20-1-057  
 3.1.5. 상상 및 위관 액상, 유체  
 3.1.6. 주성분 고삼추출물  
 3.1.7. 주성분 투입비율 60%  
 3.1.8. 보관조건 간헐양조  
 3.1.9. 공급원 한국기어연구소

3.2. 시험동물

3.2.1. 시험계 Sprague-Dawley (SD), SPF  
 - Rat  
 3.2.2. 공급원 한국생명안전성연구소  
 - 명칭  
 - 소재지  
 - 연락처

3.2.3. 시험계의 선택사유

농촌진흥청 고시 제2020-4호 등록독성시험 기준과 방법에 시험동물로 뿔도를 추천하고 있으며, 본 계통에 대한 기초자료가 충분히 축적되어 있으므로 시험 결과 해석 및 평가가 용이하여 선택하였다.

3.2.4. 주형 및 채증일정

(표 1. 시험동물의 주형 및 채증일정)

시험일자 투여 시	1단계 (2000 mg/kg BW)	2단계 (2000 mg/kg BW)
주형(중)	8	8
채증(기)	202 ~ 215	222 ~ 235

3.2.5. 순화 및 관측

시험(단계별)로 동물들 구입한 후 1단계 및 2단계 시험은 각각 7일, 10일 동안 동물실험실의 환경 하에서 순화시키면서 일반 건강상태를 관찰하여 건강한 개체를 선발, 본 시험에 사용하였다.



3.3. 사육환경 및 관리

3.3.1. 사육환경

본 시험에 사용된 공간은 온도 23±0.5, 상대습도 60±3%, 광기시간 (광주기) 조명시간 12시간 (오전8시-오후8시) 및 조도 150~300 Lux의 실험실조건에서 사료와 물을 자유롭게 섭취 및 시험기간 동안 적의 사육되었다.

3.3.2. 사육장지

순화 및 시험기간 중 콜리키보네이트 사육상자 (260×420×180 mm)에 3마리씩 넣어 길상을 갖게 사육하였다.

3.3.3. 사료 및 물공급

사료는 방사선 멸균된 사료 (LabDiet)를 자유 급식시켰으며 물공급은 질수질과 용과 및 자외선 살균된 지하수를 자유 섭취하였다.

3.4. 투여방법수준설정 및 억제조건

3.4.1. 투여방법수준설정

본 시험물질은 양전구소에서 유기농재들의 시험용 재료를 검토하여 1단계 시험에서 최고투여량인 2000 mg/kg BW로 투여하였고, 투여 후 72시간 동안 식사 및 움직임독증상이 관찰되지 않아, 동일한 농도로 투여량을 설정하여 2단계 시험을 실시하였다.

3.4.2. 실험동물 수 / 개체시험

실험동물 수는 각 단계별 암컷 3마리를 1군으로 하였으며, 개체시험은 음성 대치를 사용하여 각 개체의 마수에 표시하고, 사육상자에 개체시험 라벨을 부착하여 식별하였다.

3.4.3. 용매대조군의 설정

중류수로 시험물질을 조제하여 용매대조군은 따로 설정하지 않았다.

3.4.4. 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 중류수를 사용하였으며 역삼압 시험물질을 저용로 2.0 g를 정확히 칭량하여 5 mL의 volumetric flask에 넣고 2차 중류수를 표관주기 질량할 후 vortex를 충분히 혼합시켜 시험용액 (test solution)으로 사용하였다.

3.4.5. 투여량 (volume) 설정

투여량(용액)은 5 mL/kg BW로 설정하였다.

3.5. 시험물질의 투여

3.5.1. 사료의 첨가

시험물질 투여까지 하룻밤 전부터, 시험물질 투여 후 3시간 동안은 먹이를



주지 않았다.

3.5.2. 투여량과 및 투여방법

젯드 연구투여용 콘대 (Sonde)를 이용하여 투여 전 체중 측정치를 기준으로 수중이 시험물질 투여량을 산출할 후, 강구투여 강구부 위내 1회에 알라데 강제 투여하였다.

4. 관찰 및 측정 (Observation and Determination)

4.1. 일반증상조사 및 식사동률

적의 동일한 적의 후 30분, 1시간에서 4시간까지 매 시간마다 일반증상조사 및 식사수를 관찰하였으며, 식일부하는 매일 1회씩, 투여 개시 후 14일까지 관찰 및 조사하였다.

4.2. 제충측정

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

4.3. 부검

실험종료일에 모든 개체에 대하여 부검을 실시하였다.

4.4. 반수치사량 (LD50) 산출

급성경구독성 시험을 독성등급법에 의해 실시하여 LD50을 산출하였으며, 농약관리법 시험규칙 (별표 3의5) 농약 등의 독성 및 잔류성정도별 구분에 준하여 독성을 구분하였다.

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

Class*	Classification criteria				GHS <sup>b</sup>	LD <sub>50</sub> (mg/kg BW)
	Acute Oral (LD <sub>50</sub> /mg/kg BW)		Acute Dermal			
	Solids	Liquids	Solids	Liquids		
I (Extreme)	< 5	< 20	< 10	> 40	I	≤ 5
II (High)	5.5 - 50	≥ 20 - 200	≥ 10 - 100	≥ 40 - 400	II	< 10
III (Moderate)	≥ 50 - 500	≥ 200 - 2000	≥ 100 - 1000	≥ 400 - 4000	III	≥ 100
IV (Slightly)	≥ 500	≥ 2000	≥ 1000	≥ 4000	IV	≥ 2000

a : Classification systems of Acute toxicity for pesticides in Korea  
b : Globally Harmonized Classification System



5. 시험결과 (Results)

5.1. 일반증상조사 및 식사동률 (Table 1, Appendix 1, 2)

전날에는 1단계 및 2단계 시험 투여량 2000 mg/kg BW에서 일반증상조사를 보거나 식사량 개체가 관찰되지 않았다.

5.2. 제충비율 (Table 3, Appendix 3)

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

5.3. 부검소견 (Appendix 4)

관찰결과 후 모든 단계의 시험동물은 CO<sub>2</sub> 가스로 마취시켜 주요 장기와 대한 육안적 관찰을 실시한 결과 억제투여에 의한 특이한 이상소견은 관찰되지 않았다.

5.4. 반수치사량 (LD<sub>50</sub>)

젯드를 이용한 산월어의 급성경구독성시험 결과, LD<sub>50</sub>은 2000 mg/kg BW 초과이며 농약관리법 시험규칙 (별표 3의5) 농약 등의 독성 및 잔류성정도별 구분에 의거 Ⅲ급 (저독성)으로 구분되었다.



6. 참고문헌 (References)

- 농촌진흥청 고시 제2020-4호 「농약 및 원제의 등록기준」 (별표 12) 인축독성시험 기준과 방법, 12-1-20. 급성경구독성시험 (급성독성등급법) (2020.02.28)
- 국립농산물관리연구원 고시 제2019-5호 「유기농업자재 공시 기준」 (2019.06.17)
- OECD Guideline for the Testing of Chemicals, No. 423 「Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method」 (2001.12.17)



7. Tables (Group summary)

Table 1. Mortality and clinical signs

Group	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Number of animals	Clinical signs	Mortality	LD <sub>50</sub>
1	2000	Female	3	No abnormality detected	0/3 <sup>a</sup>	>2000 ~ 1000 mg/kg B.W.
2	2000	Female	3	No abnormality detected	0/3	

<sup>a</sup> : 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	3	7	14
1	2000	Female	3	207.3 ± 6.8 <sup>a</sup>	212.0 ± 7.2	219.5 ± 6.0	233.0 ± 8.9
2	2000	Female	3	228.7 ± 6.5	235.0 ± 6.0	241.7 ± 5.0	263.3 ± 4.2

<sup>a</sup> : Mean ± standard deviation

8. Appendices (Individual data)

Appendix 1. Mortality of rats

Group	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Number of animals	Days after administration									
				Days									
				0	1	2	3	4	5				
1	2000	Female	3	0 <sup>a</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
				0	0	0	0	0	0	0	0		
2	2000	Female	3	0	0	0	0	0	0	0	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	2000	Female	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	2000	Female	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

<sup>a</sup> : Number of dead animals

Appendix 2. Clinical signs of rats

Group	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Number of animals	Days after administration									
				Days									
				0	1	2	3	4	5				
1	2000	Female	1	NAD <sup>a</sup>	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	
2	2000	Female	1	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	
			2	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD		
			3	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	2000	Female	1	NAD	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	
2	2000	Female	1	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	
			2	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD		
			3	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD		

<sup>a</sup> : No abnormality detected

Appendix 3. Body weights

Group	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Number of animals	Days after administration (g)				
				0	3	7	14	Gain
1	2000	Female	1	215	220	225	234	21.0
			2	205	210	220	240	35.0
			3	203	206	213	223	21.0
Mean			207.3	212.0	219.3	233.0	25.7	
S.D. <sup>a</sup>			6.8	7.2	6.0	8.9	-	
2	2000	Female	1	235	241	247	260	25.0
			2	222	229	237	262	40.0
			3	229	235	241	268	39.0
Mean			228.7	235.0	241.7	263.3	34.7	
S.D.			6.5	6.0	5.0	4.2	-	

<sup>a</sup> : Standard Deviation

**Appendix 4. Macroscopical findings necropsy**

**- Group 1 (2000 mg/kg B.W.)**

Animal 1 Planned necropsy (Final necropsy) 18-Aug-2020  
No Findings Noted

Animal 2 Planned necropsy (Final necropsy) 18-Aug-2020  
No Findings Noted

Animal 2 Planned necropsy (Final necropsy) 18-Aug-2020  
No Findings Noted

**- Group 2 (2000 mg/kg B.W.)**

Animal 1 Planned necropsy (Final necropsy) 21-Aug-2020  
No Findings Noted

Animal 2 Planned necropsy (Final necropsy) 21-Aug-2020  
No Findings Noted

Animal 3 Planned necropsy (Final necropsy) 21-Aug-2020  
No Findings Noted

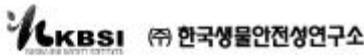


④ 랫드를 이용한 급성경피독성시험

최종보고서

랫드를 이용한 선철이의 급성경피독성시험

ATP-20039



KBSI

7 page of 16

목 차  
[Contents]

보고서표지	1
재중문	2
목차 [Contents]	3
1. 요약 [Summary]	5
2. 시험설치의 개요 [Introduction]	6
2.1. 시험제목	6
2.2. 시험물질	6
2.3. 시험목적	6
2.4. 시험방법	6
2.5. 시험의뢰자	6
2.6. 시험기관	6
2.7. 시험장소	6
2.8. 시험책임자	6
2.9. 시험경계자	7
2.10. 시험일정	7
2.11. 시험물질의 보관	7
2.12. 시험자료의 보관	7
3. 시험재료 및 방법 [Materials and methods]	8
3.1. 시험물질	8
3.2. 시험동물	8
[표 1. 시험동물의 주령 및 재출범위]	8
3.3. 사육환경 및 관리	8
3.4. 투여약품수준설정 및 억제조제	9
3.5. 시험동물의 부여	9
4. 관찰 및 측정 [Observation and determination]	10
4.1. 일반중독증상 및 처사동물	10
4.2. 체중측정	10
4.3. 부검	10
4.4. 만수치시약량 [D <sub>50</sub> ] 산출	10
5. 시험결과 [Results]	11
5.1. 일반중독증상 및 처사동물	11
5.2. 체중변화	11
5.3. 만수치시약량 (LD <sub>50</sub> )	11
[표 2. 급성독성정도에 따른 농약 등의 구분]	11



KBSI

8 page of 16

재 중 문

시험물질 : 선철이  
시험제목 : 랫드를 이용한 선철이의 급성경피독성시험

상기 독성시험을 "농약 및 원제의 등록기준" (별표 1)에 인축독성시험 기준과 방법 (농촌진흥청 고시 제2020-45)에 준하여 실시하고 그 결과를 다음과 같이 제출합니다.

2020년 09월 14일  
KBSI 한국생물안전성연구소  
시험책임자 열 지 영



KBSI

9 page of 16

6. 참고문헌 [References]	12
7. Tables [Group summary]	13
Table 1. Mortality and clinical signs	13
Table 2. Mean body weights	13
8. Appendices [Individual data]	14
Appendix 1. Mortality of rats	14
Appendix 2. Clinical signs of rats	15
Appendix 3. Body weights	16



KBSI

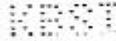
10 page of 16

1. 요약 [Summary]

갯도를 이용한 선형미의 급성경피독성시험을 4000 mg/kg B.W의 약량으로 난회 경피 후 14일 동안 치사수, 일반중독증상, 체중변화를 관찰 조사한 결과는 다음과 같다.

- 한계시험의 투여약량수준인 4000 mg/kg B.W에서 치사개체가 관찰되지 않았다.
- 일반중독증상은 관찰되지 않았다.
- 체중변화는 약제투여 후 경과일수에 따라 증가추세를 보였다.

따라서, 갯도를 이용한 선형미의 급성경피독성시험 LD50값은 4000 mg/kg B.W 초과이며, 분약간격법에 의거 독성을 구분하면 IV급 (저독성)에 해당되었다.



2. 시험실시의 개요 [Introduction]

2.1. 시험제목

갯도를 이용한 선형미의 급성경피독성시험

2.2. 시험물질

선형미

2.3. 시험목적

갯도를 이용한 선형미의 급성경피독성시험을 통하여 유기농업자재 공시에 관한 기초자료로 활용하고자 한다.

2.4. 시험방법

"농약 및 원재의 등록기준" (별표 12) 인축독성시험 기준과 병행 (농촌진흥청 고시 제2020-4호) 중 12-1-2. 급성경피독성시험에 준하여 실시하였다.

2.5. 시험의뢰자

명칭 한국농업기술연구원

소재지 [Redacted]

2.6. 시험기관

명칭 국립농업안전성연구소

소재지 [Redacted]

연락처 [Redacted]

2.7. 시험장소

명칭 국립농업안전성연구소 동물시험실

소재지 [Redacted]

2.8. 시험책임자

성명 엄지영

소속 국립농업안전성연구소 독성연구팀



2.9. 시험관계자

시험물질의 조제 박이순, 박우근  
 시험물질의 노출 박이순, 박우근  
 관찰/적정/평가 박이순, 박우근  
 동물사육관리 박이순, 박우근

2.10. 시험일정

동물양육일 2020년 07월 28일  
 약제순회기간 2020년 07월 28일 - 2020년 08월 03일  
 시험동물 확보일 2020년 08월 03일  
 시험물질 투여일 2020년 08월 04일  
 일반중독관찰기간 2020년 08월 04일 - 2020년 08월 18일  
 실험종료일 2020년 08월 18일  
 최종보고서 제출일 2020년 09월 14일

2.11. 시험물질의 보관

본시험에 사용한 시험물질은 당 연구소 시험물질보관고에 보관하였다.  
 시료번호 20-1-057  
 시험물질보관기간 유기농업자재 공시 후 3년

2.12. 시험자료의 보관

본시험의 시험기초자료 및 관계시험성적서는 당 연구소 자료보관실에 보관하였다.  
 시험번호 ATP-20039  
 시험기초자료 자료보관실  
 최종보고서 자료보관실  
 자료해독디스크 자료보관실  
 자료보관기간 유기농업자재 공시 후 3년  
 자료관리담당자 원남수, 최승균



시험시간 12시간 (오전8시~오후8시) 및 온도 150~200 Lux의 실험실조건에서 사료와 음용수를 급여하여 순회 및 시험기간 동안 관리 사육하였다.

3.0. 사육상자

순회 및 시험기간 중 폴리카보네이트 사육상자 (260×420×180 mm)에 5마리씩 넣어 알짚을 깔아 사육하였다.

3.1. 사료 및 음용수

사료는 방사성 표기된 사료 (LabDiet)를 자유 급식시험으로 용분수는 절수일터 통과 및 자외선 살균한 지하수를 자유 섭취하였다.

3.4. 투여약량수준설정 및 약제조제

3.4.1. 투여약량수준설정

말수 모두 한계투여량인 4000 mg/kg B.W로 설정하여 시험을 실시하였다.

3.4.2. 실험동물 수 / 개체식별

시험 동물 수는 말수 각각 5마리씩 3개체를 1군으로 하였으며, 개체식별은 유성대적용 사용하여 각 개체의 미부에 표시하고, 사육상자에 개체시험 라벨을 부착하여 식별하였다.

3.4.3. 용매대조군의 설정

중류수를 대용하여 시험물질을 조제하였기에 용매대조군은 따로 설정하지 않았다.

3.4.4. 용매의 선택과 시험용액 조제

시험용액 조제 시 용매는 2차 중류수를 사용하였으며 시험물질 16.0 g를 정확히 칭량하여 20 mL의 volumetric flask에 넣고 2차 중류수를 표선까지 증류된 후 vortex로 충분히 혼합하여 시험용액 (test solution)으로 사용하였다.

3.4.5. 처리액량 (volume)설정

처리액량은 처리약량수준별 공회 5 mL/kg B.W로 설정하였다.

3.5. 시험물질의 투여

3.5.1. 약제처리방법 및 처리방법

시험동물은 시험물질처리 하루 전에 용 부위에 제모기를 이용하여 5×6 cm 이상 크기 넓이로 제모하고, 4×4 cm 크기 간격의 거즈에 시험물질을 균일하게 묻힌 다음 제모 된 부위에 Coban (self-adherent wrap, 3M 회사)로 고정/유지 하였다.

3.5.2. 시험물질의 제거

용 부위에 도포시간 시험물질을 24시간 후 제거하고 피부에 묻은 잔여 물질은 중류수로 잘 닦고, 효과를 알지전으로 물기를 흡수시킨 다음 케이지에 넣어두었다.





3. 시험재료 및 방법 (Materials and methods)

3.1. 시험동물

- 3.1.1. 품종명 선종어
- 3.1.2. 입수일 2020년 07월 16일
- 3.1.3. 입수량 100 mL
- 3.1.4. 시료번호 20-1-057
- 3.1.5. 양성 및 음성 역상, 강제
- 3.1.6. 주원료 고상주종물
- 3.1.7. 주원료 투입비율 60%
- 3.1.8. 보관조건 건냉암소
- 3.1.9. 공급원 한국과학어업연구소

3.2. 시험동물

- 3.2.1. 시험계 - Rat Sprague-Dawley (SD), SPF
- 3.2.2. 공급원 - 명칭 원림실험동물연구소
- 소재지
- 연락처

3.2.3. 시험계의 선택사유

농촌진흥청 고시 제2020-4호 인축독성시험 기준과 병행해 시험동물로 컷트를 추천하고 있으며, 본 계통에 대한 기초자료가 충분히 축적되어 있으므로 시험 결과 해석 및 평가가 용이하여 선택하였다.

3.2.4. 주령 및 채종번호

[표 1. 시험동물의 주령 및 채종번호]

시험역계 부역시	Male	Female
주령 (주)	8	8
채종 (g)	282 ~ 316	216 ~ 229

3.2.5. 순화 및 관여

동물들 구입한 후 7일 동안 동물실험실의 환경 하에서 순화시키면서 일반 건강 상태를 관찰하여 건강한 개체를 선발, 본 시험에 사용하였다.

3.3. 사육환경 및 관리

3.3.1. 사육환경

본 시험의 사육환경은 온도 22±3°C, 상대습도 50±20%, 환기시설 (공조기),



4. 관찰 및 측정 (Observation and determination)

4.1. 일반증독증상 및 자사동물

처리 상식은 처리 후 30분, 1시간에서 4시간까지 매 시간마다 일반증독증상 및 자사수를 관찰하였으며, 역상부터는 매일 1회씩, 주역 개시 후 14일까지 관찰 및 조사하였다.

4.2. 계종측정

시험전 모든 동물에 대하여 시험물질 투여 직전에 체중을 측정하였고 생존한 동물에 한하여 투여 후 3일, 7일, 실험종료일전 14일째 계체별 체중을 측정하였다.

4.3. 부검

시험물질 처리 후 모든 시험동물에게서 특이한 증독증상 및 치사개체가 발견되지 않아 부검을 실시하지 않았다.

4.4. 반수치사역량(LD<sub>50</sub>) 산출

농촌진흥청 고시 제2020-4호 농약 및 원재의 등록기준에 의해 시험을 실시한 결과, 시험고시의 최고용량에서 모든 시험동물이 생존하여 시험종료 후 통계치치는 생략하였다.



5. 시험결과 (Results)

5.1. 일반증독증상 및 자사동물 (Table 1, Appendix 1, 2)

실험동물 반계투여량당 4000 mg/kg B.W.의 강제 노출한 결과 일반증독증상 및 치사개체는 발생하지 않았다.

5.2. 계종변화 (Table 2, Appendix 3)

모든 시험동물의 체중은 역제투여 후 경과 일애 따라 증가추세를 보였다.

5.3. 반수치사역량 (LD<sub>50</sub>)

병든을 이용한 실험어의 급성경피독성시험 시험 결과, LD<sub>50</sub>값은 4000 mg/kg B.W. 초과이며 농약관리법에 따라 독성을 구분하면 IV급 (가독성)에 해당되었다.

[표 2. 급성독성 정도에 따른 농약 등의 구분]

구분	시험동물이 반수를 죽일 수 있는 양 (mg/kg B.W.)	
	급성경피	역제
I급 (엔독성)	10 미만	40 미만
II급 (고독성)	10 이상, 100 미만	40 이상, 400 미만
III급 (중독성)	100 이상, 1,000 미만	400 이상, 4,000 미만
IV급 (가독성)	1,000 이상	4,000 이상

X 고제 및 역제의 분류는 농약 등의 물리적 상태에 의한.



6. 참고문헌 (References)

- 농촌진흥청 고시 제2020-4호 「농약 및 원재의 등록기준」 (부표 12) 인축독성시험 기준과 방법, 12-1-2. 급성경피독성시험 (2020.02.28)
- 국립농산물품질관리원 고시 제2019-5호 「유기농업자재 공시 기준」 (2019.06.17)



7. Tables [Group summary]

Table 1. Mortality and clinical signs

Group	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Number of animals	Clinical signs	Mortality (dead / total)	LD <sub>50</sub>
1	4000	Male	5	No abnormality detected	0% (0 / 5) <sup>a</sup>	> 4000 mg/kg B.W.
2	4000	Female	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	3	7	14
1	4000	Male	5	257.0 ± 12.6 <sup>a</sup>	310.8 ± 11.1	300.6 ± 11.5	352.4 ± 9.6
2	4000	Female	5	221.4 ± 4.0	228.2 ± 3.2	237.2 ± 4.4	262.4 ± 8.0

a : Mean ± standard deviation



B. Appendices [Individual data]

Appendix 1. Mortality of rats

Group	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Number of animals	Days after administration																
				Days																
				30 min	1hr	2hr	3hr	4hr	1	2	3	4	5							
1	4000	Male	5	0 <sup>a</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	4000	Female	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Group	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Number of animals	Days after administration											
				0	7	8	9	10	11	12	13	14			
1	4000	Male	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	4000	Female	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

a : Number of dead animals



Appendix 2. Clinical signs of rats

Group	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Number of animals	Days after administration																		
				Days																		
				30 min	1hr	2hr	3hr	4hr	1	2	3	4	5									
1	4000	Male	1	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	
			2	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			3	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			4	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
			5	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD
2	4000	Female	1	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	
			2	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	
			3	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	
			4	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	
			5	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	NAD	

a : No abnormality detected



Appendix 3. Body weights

Group	Dose (mg/kg B.W.)	Sex	Number of animals	Days after administration (g)				
				0	1	7	14	Gain
1	4000	Male	1	294	310	319	350	56.0
			2	316	330	340	368	52.0
			3	282	305	319	349	67.0
			4	301	307	315	350	49.0
			5	292	302	310	344	52.0
Mean			297.0	310.8	326.6	352.4	55.4	
S.D. <sup>a</sup>			12.8	11.1	11.5	9.6	-	
2	4000	Female	1	223	230	238	257	34.0
			2	216	224	230	263	47.0
			3	227	232	242	270	43.0
			4	221	229	238	270	49.0
			5	220	226	238	252	32.0
Mean			221.4	228.2	237.2	262.4	41.0	
S.D.			4.8	3.6	3.4	10.0	-	

a : Standard deviation

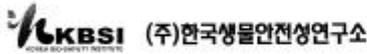


⑤ 꿀벌(*Apis mellifera*) 급성접촉독성시험

최종보고서

선철이의  
꿀벌 (*Apis mellifera*) 급성접촉독성시험

ETBC-20037



KBSI

890

3 page of 38

제 출 문

시험물질 : 선철이  
시험제형 : 선철이의 꿀벌 (*Apis mellifera*) 급성접촉독성시험

상기 독성시험을 "농약 및 원제의 등록기준" (별표 13) 환경생물 독성 시험기준과  
방법 (농촌진흥청고시 제2020-4호)에 준하여 실시하고 그 결과를 다음과 같이  
제출합니다.

2020년 09월 14일  
㈜한국생물안전성연구소  
시험책임자 강희섭

KBSI

890

2 page of 35

목 차  
(Contents)

- 보고서표지 ..... 1
- 제출문 ..... 2
- 목차 (Contents) ..... 3
- 1. 요약 (Summary) ..... 4
- 2. 서론 (Introduction) ..... 5
  - 2.1 시험물질정보 ..... 5
  - 2.2 시험책임자 ..... 5
  - 2.3 시험관계자 ..... 5
  - 2.4 시험물질 ..... 5
  - 2.5 시험목적 ..... 5
  - 2.6 시험법 ..... 5
  - 2.7 시험물질의 보관 ..... 6
  - 2.8 시험자료의 보관 ..... 6
- 3. 재료 및 방법 (Materials and Methods) ..... 7
  - 3.1 시험물질 ..... 7
  - 3.2 시험동물 ..... 7
  - 3.3 시험재료 및 준비 ..... 8
  - 3.4 시험방법 ..... 8
- 4. 관찰 및 측정 (Observation and Determination) ..... 10
  - 4.1 관찰 ..... 10
  - 4.2 실내온도 및 상대습도 ..... 10
  - 4.3 시험동물의 표시 및 통계처리방법 ..... 10
- 5. 시험결과 (Results) ..... 11
  - 5.1 시험환경 조건 ..... 11
  - 5.2 지사개체 및 이상행동 ..... 11
  - 5.3 급성접촉독성시험 결과 ..... 11
- 6. 참고문헌 (References) ..... 12
- 7. Tables ..... 13
  - Table 1. Cumulative mortality of honeybee ..... 13
  - Table 2. Behavioral abnormalities of honeybees ..... 14
- 8. Appendices ..... 15
  - Appendix 1. Positive control study ..... 15
  - Appendix 2. Temperature and relative humidity ..... 16

KBSI

890

3 page of 38

1. 요약 (Summary)

선철이의 꿀벌에 대한 급성적 영향을 평가하고, 반수지사역량 (LD<sub>50</sub>)를 산출하기 위해  
48시간동안 급성접촉독성시험을 수행하였다.

시험의 역량은 부처리군과 음성대조군 (methanol 1 µl/bee) 및 계통 (100%) 기준  
10,000, 100,000 µg/bee로 설정하였다.

시험동물은 부처리군과 음성대조군 그리고 100,000 µg/bee의 역량에서 각각 10마리씩  
3반복으로 노출시켰고, 10,000 µg/bee의 역량에서는 10마리씩 2반복으로 노출시켰다.

시험물질 노출 후 48시간동안 관찰한 결과, 부처리군과 음성대조군에서 모든 개체가  
정상으로 관찰되었다.

시험물질 처리군에서는 100,000 µg/bee의 역량에서 48시간에 처사 개체 1마리가  
관찰되었다.

본 시험의 결과는 아래와 같다.

Observation time (hr)	LD <sub>50</sub> <sup>a</sup> (µg/bee)
24 & 48	> 100,000

x. Based on nominal dose of product

선철이의 꿀벌에 대한 24, 48시간 반수지사역량 (LD<sub>50</sub>)는 계통 기준으로 모두 100,000  
µg/bee 초과이었다.

KBSI

890

4 page of 35

2. 서 론 [Introduction]

2.1 시험일반정보

시험제목: 신질이여 꿀벌 (*Apis mellifera*) 급성급독성시험  
 시험물질: 신질이  
 시험의뢰자: 한국과이어이온연구소  
 시험기관: ㈜한국생물안전성연구소  
 시험장소: ㈜한국생물안전성연구소 GAP 연구동 실험실

2.2 시험책임자

장희선  
 ㈜한국생물안전성연구소 독성연구팀

2.3 시험관계자

시험물질의 조제/노출: 장희선  
 공임/측정/평가: 장희선  
 발행사독관리담당자: 장희선, 박우근

2.4 시험일정

시험물질 노출일: 2020.08.05  
 관찰/측정/평가: 2020.08.05 ~ 2020.08.07  
 관찰 종료일: 2020.08.07  
 최종보고서 제출일: 2020.09.14

2.5 시험목적

꿀벌 (*Apis mellifera*)에 대한 급성급독성시험을 통하여 유기농업자재 공시에 관한 기초자료로 활용하고자 한다.

2.6 시험법

농촌진흥청 고시 제2020-48호 (2020.02.28) "농약 및 용제의 등록기준", (별표 13) "환경생물 독성 시험기준과 방법", "13-1-4. 꿀벌급성독성시험", "13-1-4-1. 꿀벌급독성 시험"에 따라 수행되었다.



2.7 시험물질의 보관

본시험에 사용한 시험물질은 당 연구소 시험물질보관고에 보관하였다.  
 시료번호: 20-1-057  
 시험물질보관기간: 유기농업자재 공시 후 3년

2.8 시험자료의 보관

본시험의 시험기초자료 및 관계시험실적서는 당 연구소 자료보관실에 보관하였다.  
 시험번호: ETRC-2007  
 시험기초자료: 자료보관실  
 최종보고서: 자료보관실  
 자료하드디스크: 자료보관실  
 자료보관기간: 유기농업자재 공시 후 3년  
 자료관리담당자: 임남수, 최윤균



3. 재료 및 방법 [Materials and Methods]

3.1 시험물질

물질명: 신질이  
 접수일: 2020.07.16  
 접수량: 100 mL  
 시료번호: 20-1-057  
 외관 및 색상: 액상, 갈색  
 주원료: 고상추출물  
 주원료 투입비율: 60%  
 보존조건: 냉장보관  
 공급원: 한국과이어이온연구소

3.2 시험생물

3.2.1 시험생물  
 시험종: 꿀벌 (*Apis mellifera*)  
 공급원: ㈜한국생물안전성연구소  
 주수: [redacted]  
 접수일: [redacted]

3.2.2 사육  
 사육장소: ㈜한국생물안전성연구소 꿀벌 배양사육소  
 사육상자: 장방형 나무소재 벌통  
 사육조건: 당 연구소의 기존 생육으로부터 분봉된 꿀벌 새끼를 접수일 부터 본 시험 목적에 맞춰 야외사육소에서 순화 및 자연사육 하였다.  
 사육관리: 접수 이후 동결기 (동동), 장마 기간 등 사육관리자의 판단에 의해 필요시 고습도 (60% 이상) 자갈용액을 급여 하였으며, 하절기 (9월~10월)에는 벌 2기 이상 분봉 여부를 점검하여 벌군의 건강상태를 확인하고, 새끼가 도입 될수 있을 때까지 관리 하였다.

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



3.3 시험재료 및 준비

3.3.1 시험용 용기  
 스테인리스 용기를 이용하여 길이 15 cm, 직경 5 cm 크기의 원통형으로 만들어진 시험용케이지에 입구를 원통형 알루미늄 압착 금속판 (직경 1 cm, 길이 5 cm 정도)을 끼울 수 있도록 구멍을 뚫은 스펀지 마개를 사용하였다.

3.3.2 약액  
 실험실시 현 50% 제형용액물 100μL당 2 mL 이상 제형 준비하였다.

3.3.3 시험물질 노출 전 시험생물 관리  
 환기구멍이 있는 밀폐용기에 한 벌통에서 생산된 건강하고 활동성이 좋은 일벌을 채집하여 CO<sub>2</sub> 가스를 채취시킨 후, 여은 개체를 채취하고 한 케이지 당 30마리의 벌을 넣어 25±2°C의 암조건에서 회복시킨 다음 시험에 사용하였다.

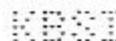
3.4 시험방법

3.4.1 시험약량 설정  
 시험물질의 주원료의 독성 상 100,000 μg/bee의 약량에서 독성이 발현될 가능성이 있을 것이라 예상하였고, 재용 (100%) 기준 100,000 μg/bee 약량에서 환경시험으로 진행되던 본시험 단계로 진행 시 약량 설정을 위해 10,000 μg/bee 약량을 추가로 설정하였다.

3.4.2 시험용액 조제  
 시험물질 1,000 g를 10 mL-volumetric flask에 넣고, methanol을 일부 가해 원탁시킨 다음 표선까지 정용하였다. 이후 vortex mixer를 이용해 충분히 용해시켜 재용 기준 100,000 μg/L의 시험용액 (test solution)을 조제하였다. 10,000 μg/L의 시험용액은 100,000 μg/L의 시험용액 1,000 mL를 분취하여 10 mL-volumetric flask에 넣고, methanol으로 정용한 후 vortex mixer를 이용해 충분히 희석하여 조제하였다.

3.4.3 시험물질 노출  
 케이지 안에 20마리의 수컷인 꿀벌들을 밀봉하여 10% CO<sub>2</sub> 가스를 채취한 후 여과기 위에 올려놓고, 조제한 시험용액을 micro applicator를 사용하여 딱딱한 꿀벌의 흉부 (유부위)에 각각 1 μL씩 처리하였다.

3.4.4 노출 생육수  
 무처리군과 음성대조군 그리고 100,000 μg/bee의 약량은 각각 10마리의 3번복으로 노출시켰고, 10,000 μg/bee 약량은 10마리의 2번복으로 노출시켰다.



- 14.5 대조군 설정
  - 부처리군: 마취 후 어떠한 자극도 주지 않았다.
  - 음성대조군: Methanol을 개체 당 1 µl씩 처리하였다.
  - 양성대조군: 가장 최근에 실시한 시험결과로 대체되었다 (Appendix 1).
- 14.6 시험환경
  - 기간: 48시간
  - 광주기: 암조건 (관찰시간 제외)
  - 온도: 25±2°C
  - 상대습도: 50~70%
  - 먹이공급: 시험물질이 처리된 벌을 다시 케이지에 옮긴 후, 50% 자당농액이 들어있는 급이공급을 공급하였다.



4. 관찰 및 측정 (Observation and Determination)

- 4.1 관찰
 

시험물질 노출 후 4, 24시간 및 48시간 경과 시에 이상증상 및 치사 개체를 관찰하였다. 이상증상은 알면충독증상, 독여충상 등을 관찰하였으며, 치사 개체의 환경은 육안으로 관찰하여 움직임이 없고 주사침을 이용하여 건드렸을 때 더듬이, 다리 및 몸통의 움직임이 중단된 경우 치사로 간주하였다.
- 4.2 실내온도 및 상대습도
 

실�험실 실내온도 및 상대습도는 시험개시부터 60분 간격으로 자동 전자 운습도 기록계 (Thermo recorder TR-72U, Thermo Scientific™, USA)를 이용하여 측정 하였다.
- 4.3 시험결과와 표시 및 통계처리방법
 

본 시험이 평가시험 단계에서 통령형에 따라 제출 기준으로 설정한 시험약량 중 최고 시험약량의 조공로서 24, 48시간 반수치사약량 (LD<sub>50</sub>)을 표기 하였다.



5. 시험결과 (Results)

- 5.1 시험환경 조건
 

시험기간 동안 실험실의 실내온도는 평균 25.5°C (24.9~26.1°C), 상대습도는 평균 64.4% (57~68%)로 측정되었다 (Appendix 2).
- 5.2 치사개체 및 이상증상
 

시험물질 노출 후 48시간동안 관찰한 결과, 부처리군과 음성대조군 (methanol 1 µl/bee)에서 모든 개체가 정상으로 관찰되었다. 시험물질 처리군 (10,000, 100,000 µg/bee)에서는 48시간 관찰 시에 100,000 µg/bee 약량에서 치사 개체 1마리가 관찰되었으며, 이 외에 다른 이상증상은 관찰되지 않았다 (Table 1, 2).
- 5.3 급성침독성시험 결과
 

이상의 시험 결과, 현행의 공벌에 대한 24, 48시간 반수치사약량 (LD<sub>50</sub>)은 제품 기준으로 모두 100,000 µg/bee 초과하였다.

Observation time (hr)	LD <sub>50</sub> <sup>a</sup> (µg/bee)
24 h, 48	> 100,000

a: Based on nominal dose of product



6. 참고문헌 (References)

- 1) 농촌진흥청 고시 제2020-4호 (2020.02.28) "농약 및 원제의 등록기준", [별표 13] "환경성별 독성 시험기준과 방법", "13-1-4. 꿀벌급성독성시험", "13-1-4-1. 급성침독 독성"
- 2) 국립농산물품질관리원 고시 제2019-5호 (2019.06.17) "유기농업지재 공시 기준"
- 3) OECD guidelines for the testing of chemicals, No. 214 "Honeybees, Acute Contact Toxicity Test (adopted: Sep. 21, 1998)"



7. Tables

Table 1. Cumulative mortality of honeybees

Nominal dose <sup>a</sup> (µg/bee)	Exposed honeybees	Cumulative mortality			Mortality (Death / total)	
		4 hr	24 hr	48 hr	24 hr	48 hr
Untreated control	10	0	0	0	0.0%	0.0%
	10	0	0	0	0 / 30	0 / 30
	10	0	0	0		
Negative control (Methanol 1 µl/bee)	10	0	0	0	0.0%	0.0%
	10	0	0	0	0 / 30	0 / 30
	10	0	0	0		
10,000	10	0	0	0	0.0%	0.0%
	10	0	0	0	0 / 20	0 / 20
100,000	10	0	0	0		
	10	0	0	0	0.0%	3.3%
	10	0	0	1	0 / 30	1 / 30

a. Based on product

Table 2. Behavioral abnormalities of honeybees

Nominal dose <sup>a</sup> (µg/bee)	Exposed honeybees	Abnormal response		
		4 hr	24 hr	48 hr
Untreated control	10	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>
	10	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>
	10	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>
Negative control (Methanol 1 µl/bee)	10	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>
	10	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>
	10	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>
10,000	10	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>
	10	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>
100,000	10	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>
	10	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>
	10	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>	Nil <sup>b</sup>

a. Based on product  
b. Number of honeybees

W. Observation key  
N: Normal  
A: Hyperactivity  
B: Mobile but not working or flying normally  
C: Alive but unable to walk or fly  
NA: Not applicable, not observed because of 100% mortality



8. Appendices

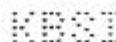
Appendix 1. Positive control study

- Recently study data

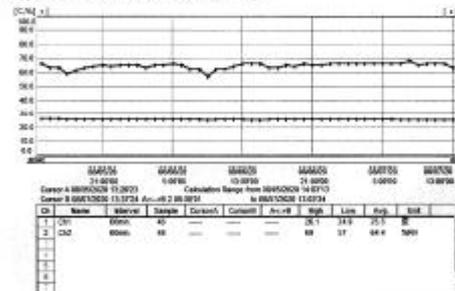
Study No.	Study period	LD <sub>50</sub> <sup>a</sup> (µg a.i./bee)	
		24 hr	48 hr
20427-PBC02	Aug. 21, 2020 - Aug. 21, 2020	0.134	0.091

a. Based on nominal dose of active ingredient

\* Test substance: Difenothate  
\* Test species: *Apis mellifera*



Appendix 2. Temperature and relative humidity



- Recording period: Aug. 05, 2020 - Aug. 07, 2020

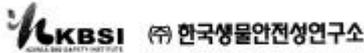


⑥ 담수어류(잉어, *Cyprinus carpio*) 급성독성시험

최종보고서

선철이의 담수어류 (잉어, *Cyprinus carpio*) 급성독성시험

ETF-20048



제 출 문

시험물질: 선철이  
시험대상: 선철이의 담수어류 (잉어, *Cyprinus carpio*) 급성독성시험

상기 독성시험을 "농약 및 원재의 등록기준" (별표 13) 환경생물 독성시험 기준과 방법 (농촌진흥청고시 제2020-4호)에 준하여 실시하고 그 결과를 다음과 같이 제출합니다.

2020년 09월 14일  
위한국생물안전성연구소  
시험책임자 김 초 실



목 차

[Contents]

보고서표지	1
제출문	2
목차 [Contents]	3
1. 요약 [Summary]	5
2. 시험실시의 개요 [Introduction]	6
2.1. 시험계획	6
2.2. 시험물질	6
2.3. 시험목적	6
2.4. 시험방법	6
2.5. 시험의뢰자	6
2.6. 시험기관	6
2.7. 시험항목	6
2.8. 시험책임자	6
2.9. 시험준계자	7
2.10. 시험일정	7
2.11. 시험물질의 보관	7
2.12. 시험기법의 보관	7
3. 시험재료 및 방법 [Materials and Methods]	8
3.1. 시험물질	8
3.2. 시험생물	8
3.3. 시험방법	8
4. 관찰 및 측정 [Observation and Determination]	10
4.1. 관찰	10
4.2. 시험환경측정	10
4.3. 원장 및 채종 측정	10
4.4. 시험결과치의 표시 및 통계처리	10
5. 시험결과 [Results]	11
5.1. 치사개체 및 이상행상	11
5.2. 시험환경조건	11
5.3. 간성 및 채종	11
5.4. 급성독성시험결과	11
6. 참고문헌 [References]	12
7. Tables	13
Table 1. Cumulative mortality of <i>Cyprinus carpio</i>	13



Table 2. Abnormal response of <i>Cyprinus carpio</i>	13
Table 3. Temperature	14
Table 4. pH-values	14
Table 5. Dissolved oxygen concentration	14
Table 6. Hardness	14
Table 7. Luminous intensity	15
Table 8. Measurement of length for <i>Cyprinus carpio</i>	15
Table 9. Measurement of body weight for <i>Cyprinus carpio</i>	15
8. Appendix	16
Appendix 1. Positive control study	16



1. 요약 [Summary]

선정어의 담수어류에 대한 급성적 영향을 평가하고, 반수치사능도 (LC50)를 산출하기 위해 잉어 (Cyprinus carpio)를 이용하여 급성독성시험을 96시간 동안 지수적으로 실시하였다.

시험용액 중 시험물질의 농도는 제로 100% 기준으로 기초시험농도 100.0 mg/L 및 율상대조군으로 구분하였으며 결과는 아래와 같다.

Time	LC50 (mg/L)	95% confidence limits	NOEC* (mg/L)
48 hr, 96 hr	> 100.0	-	100.0

a: Median lethal concentration  
b: No observed effect concentration

해당시험 조건하에서, 선정어의 잉어에 대한 48시간 및 96시간 반수치사능도 (LC50)는 제로 100% 기준으로 기초시험농도 100.0 mg/L를 초과하여 농차관리법에 따라, 독성을 구분 가능한 범위로 분류되었다.



2. 시험실시의 개요 (Introduction)

- 2.1. 시험제목  
선정어의 담수어류 (잉어, Cyprinus carpio) 급성독성시험
- 2.2. 시험물질  
선정어
- 2.3. 시험목적  
선정어에 대한 급성어류독성시험을 통하여 유기농업자재 공시제 관련 기초자료로 활용도가 높다.
- 2.4. 시험방법  
"농약 및 원재료 등록기준" (별표 13) 환경영양 독성시험 기준과 방법 (농촌진흥청 고시 제2020-48호)에 준하여 실시하였다.
- 2.5. 시험의뢰자  
명칭 ㈜고려비이오연구소  
소재지 [Redacted]
- 2.6. 시험기관  
명칭 ㈜한국생물안전성연구소  
소재지 [Redacted]  
연락처 [Redacted]
- 2.7. 시험항소  
명칭 ㈜한국생물안전성연구소 GLP 연구용 여독성실험실  
소재지 [Redacted]
- 2.8. 시험책임자  
성명 정호섭  
소속 ㈜한국생물안전성연구소 독성연구팀



2.9. 시험관계자

시험물질의 조제	오현택
시험물질의 농출	오현택
관찰/측정/평가	오현택
영어사육	김재경

2.10. 시험일정

해비시험기간	2020년 07월 28일~2020년 07월 30일
본시험순화기간	2020년 07월 27일~2020년 08월 02일
본시험 시험물질 투입일	2020년 08월 03일
본시험 종료일	2020년 08월 07일
최종보고서 제출일	2020년 09월 14일

2.11. 시험물질의 보관

본시험에 사용한 시험물질은 당 연구소 시험물질보관고에 보관하였다.  
시료번호 20-1-057  
시험물질보관기간 유기농업자재 공시 후 3년

2.12. 시험자료의 보관

본시험의 시험기초자료 및 공개시험성적서는 당 연구소 자료보관실에 보관하였다.  
시험번호 ETF-20048  
시험기초자료 자료보관실  
최종보고서 자료보관실  
자료해독디스크 자료보관실  
자료보관기간 유기농업자재 공시 후 3년  
자료관리담당자 임남수, 최윤규



3. 시험재료 및 방법 (Materials and Methods)

- 3.1. 시험물질
  - 3.1.1. 물질명 선정어
  - 3.1.2. 입수일 2020년 07월 16일
  - 3.1.3. 입수량 100 mL
  - 3.1.4. 시료번호 20-1-057
  - 3.1.5. 성상 및 외관 액상, 갈색
  - 3.1.6. 주성분 고형무수물
  - 3.1.7. 주성분 투입비율 99%
  - 3.1.8. 보관조건 건냉암소
  - 3.1.9. 공급원 ㈜고려비이오연구소
- 3.2. 시험동물
  - 3.2.1. 시험어종 (학명) 잉어 (Cyprinus carpio)
  - 3.2.2. 시험종 전양리유 본 시험에 사용된 Cyprinus carpio는 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.
  - 3.2.3. 종집원 차우
  - 명칭 차우
  - 입수일 2020년 06월 09일
  - 3.2.4. 사육
    - 사육장소 GLP 연구용 잉어 사육실
    - 사육온도 20.0~24.0℃
    - 광조건 조명 16시간 당 8시간
    - 먹이급여 1일 1~2회 급여, Top Meal (준양어 전문사료) 제일사료㈜
- 3.3. 시험방법
  - 3.3.1. 순화
    - 순화장소 GLP 연구용 여독성실험실
    - 순화수조 시험어류의 인위배양 1g 당 시험용수의 양이 1 L가 되도록 사용하였다.
    - 순화환경 순화기간동안 시험조건과 동일한 수온에서 유지되도록 하였으며, 순화중인 사육수의 플론산소량을 포화농도의 80% 이상으로 유지하기 위하여 연속적으로 산소공급을 실시하였다.





Study No. : EIT-20248 Final Report

- 순환온도 20.0~24.0°C
- 광주조건 조명 16시간, 암 8시간 (양조건식 조도 540~1000 lux)
- 먹이수 및 기간 독성시험에 필요한 먹이수의 110%이상을 시험일자 전 7일 미만 순화하였다.
- 먹이급이 사육시 공급한 사료를 1일 1회 시험일자 24시간 이전부터 절식하였다.

3.1.2. 시험농도 및 노출 마리 수  
 예비시험결과 기초시험농도인 제충 100% 기준으로 100.0 mg/L에서 지사 개체가 관찰되지 않아 제충 100% 기준 100.0 mg/L 단일농도로 폐시험을 실시하였으며, 양어 10마리를 노출시켰다. 태프군은 무처리한 시험용수를 음성대조군으로 하여 시험군과 동일하게 10마리를 노출시켰다.

3.1.3. 시험물질의 조제  
 시험물질 1,000 g을 칭량하여 10 L의 시험용수에 직접 처리한 후 충분히 교반하여 제충 100% 기준 100.0 mg/L의 시험용액을 조제하였다.

3.1.4. 시험물질 적용방법  
 - 사용수조 12.5 L 용량의 시험용 수조 (합동형 유격재)  
 - 노출기간 시험물질 노출 후 96시간  
 - 시험용수 지사수를 할피로 정수한 후 1일 이상 옥기하게 사용하였다. 수온은 순화온도와 동일한 범위 (20.0~24.0°C)내로 유지한다. 시험기간 중 수온의 변화는 ± 1°C 이상 변화되지 않도록 하였다. 또한 시험용수의 용존산소량은 최소한 포화농도 60%를 유지하도록 하였다.

3.1.5. 시험 대조군  
 - 음성대조군 시험용수인 지사수를 음성대조군으로 사용하였다.  
 - 양성대조군 가장 최근에 양성대조물질 3,5-dichlorophenol 시험한 G.P. 입수이후급성독성시험 결과를 적용하였다 (Appendix 1).



Study No. : EIT-20248 Final Report

4. 관찰 및 측정 [Observation and Determination]

4.1. 관찰  
 시험생물 투입 후 3 및 24시간 간격으로 96시간까지 관찰을 실시하였다. 관찰 시 형태이상, 사망이상, 출혈 등의 증독증상과 지사 개체수를 관찰하였고, 지사어의 관찰은 시험생물을 원리막대로 건드렸을 때 움직임을 없거나 먹이미 후흡이 중단된 경우 지사로 관찰하였다.

4.2. 시험관검측법  
 4.2.1 수질측정  
 수온과 pH 및 DO는 시험생물 노출기간 동안 1일 1회 측정하였다. 경도는 시험생물 노출 전 음성대조군에서 시험용수를 위하여 측정하였다.  
 4.2.2 경도측정  
 경도측정은 질 기준 염 16시간, 암 8시간으로 하고, 양조건식 노출계시일과 노출종료일에 조도를 측정하였다.

4.3. 관찰 및 측정 측정  
 시험종료 후 음성대조군 및 시험물질 처리군 간 개체의 관찰 및 채종을 측정하였다.

4.4. 시험물질 처리 및 통계처리  
 시험물질 투입 후 경과시간별 농도지사를 사용하여 결과를 나타냈으며, 기초시험 단계에서 시험이 종료되어 통계처리는 하지 않았다.



Study No. : EIT-20248 Final Report

5. 시험결과 [Results]

5.1 지사개체 및 이상증상  
 노출기간 96시간동안, 음성대조군 및 시험물질 처리군인 100.0 mg/L 농도군에서 지사 및 어떠한 증독증상도 관찰되지 않았다 (Table 1, 2).

5.2 시험환경조건  
 시험기간 동안 수온은 평균 22.8°C (22.6~23.3°C), pH는 평균 7.97 (7.79~8.12), 용존산소농도는 포화용존산소량 대비 평균 88.0% (81.0~99.8%)로 측정되었다. 또한, 조도는 평균 791 lux (792~846 lux). 사용한 시험용수의 경도는 77 mg CaCO<sub>3</sub>/L로 측정되었다 (Table 3~7).

5.3 관찰 및 채종  
 노출종료 후 음성대조군과 시험물질 처리군 시험어의 관찰 및 채종을 측정함 결과, 관찰은 평균 3.42 cm (3.12~3.78 cm), 채종은 평균 0.53 g (0.40~0.73 g)으로 측정되었다 (Table 8, 9).

5.4 급성독성시험결과  
 선질어의 담수대류 (양어, *Cyprinus carpio*)에 대한 48 및 96시간 반수치사농도 (LC50) 모두 재량기준 1000 mg/L을 초과하였기, 부영양물질농도 (µM)는 모두 100.0 mg/L이었다. 이 결과는 농약관리법에 의거 독성을 구분하면 희급으로 분류되었다.

이름에 대한 측정농도에 따른 농약 등의 구분

구분	반수를 측정 수 있는 농도 (µg/L, 48시간)
1급	0.5 미만
2급	0.5 이상 2 미만
3급	2 이상



Study No. : EIT-20248 Final Report

6. 참고문헌 [References]

- 농촌진흥청 고시 제2020-049 「농약 및 원제의 등록기준」(별표 1) 환경생물 독성시험 기준과 방법 (2020.02.20)
- 국립농산물품질관리원 고시 제 2019-52 (2019.06.17) "유기농업자재 공시 기준"
- OECD Guideline for Testing of Chemicals, No. 203, "Fish, Acute Toxicity Test (Adopted : June 18, 2019)"



7. Tables

Table 1. Cumulative mortality of *Cyprinus carpio*

Nominal concentration <sup>a</sup> (mg/L)	Number of fish	Cumulative mortality				
		3 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
Control	10	0	0	0	0	0
100.0	10	0	0	0	0	0

a: Based on nominal concentration of test substance itself

Table 2. Abnormal response of *Cyprinus carpio*

Nominal concentration <sup>a</sup> (mg/L)	Number of fish	Abnormal response				
		3 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
Control	10	NOR(10) <sup>b</sup>	NOR(10)	NOR(10)	NOR(10)	NOR(10)
100.0	10	NOR(10)	NOR(10)	NOR(10)	NOR(10)	NOR(10)

a: Based on nominal concentration of test substance itself

b: Number of fish

ix. Observation key

- LOE : Loss of equilibrium
- SLR : Fish mainly at the surface
- HNM : Hemorrhage
- NOE : Ventral deformation
- BDT : Fish mainly at the bottom
- NOR : Normal
- NA : Not applicable, not observed because of 100% mortality



Table 3. Temperature

Nominal concentration <sup>a</sup> (mg/L)	0 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
Control	22.0 <sup>b</sup>	22.8	22.9	22.9	22.6
100.0	22.7	22.7	22.7	22.8	22.3

a: Based on nominal concentration of test substance itself  
b: Unit : °C

Table 4. pH-values

Nominal concentration <sup>a</sup> (mg/L)	0 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
Control	8.52	7.79	7.66	7.95	7.97
100.0	8.50	7.86	7.96	7.99	7.96

a: Based on nominal concentration of test substance itself

Table 5. Dissolved oxygen concentration

Nominal concentration <sup>a</sup> (mg/L)	0 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
Control	84.0 <sup>b</sup>	81.6	95.7	98.1	93.1
100.0	82.0	81.9	93.2	99.8	91.0

a: Based on nominal concentration of test substance itself  
b: Unit : %<sub>sat</sub>

Table 6. Hardness

Test group	Hardness (mg/L CaCO <sub>3</sub> )
Control	37



Table 7. Luminous intensity

Nominal concentration <sup>a</sup> (mg/L)	0 hr	96 hr
Control	702 <sup>b</sup>	764
100.0	846	852

a: Based on nominal concentration of test substance itself

b: Unit : lux

Table 8. Measurement of length for *Cyprinus carpio*

Group	Length (cm)										Mean (Min-Max)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Control	5.58	5.37	5.12	5.36	5.72	5.37	5.42	5.18	5.57	5.76	5.42 (5.12-5.76)
Treatment	5.44	5.70	5.29	5.51	5.32	5.67	5.37	5.40	5.36	5.12	

Table 9. Measurement of body weight for *Cyprinus carpio*

Group	Weight (g)										Mean (Min-Max)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Control	0.56	0.54	0.41	0.45	0.66	0.50	0.49	0.40	0.64	0.64	0.53 (0.40-0.73)
Treatment	0.53	0.73	0.47	0.55	0.46	0.52	0.49	0.63	0.49	0.40	



B. Appendix

Appendix 1. Positive control study

Study No.	Study period	LC <sub>50</sub> <sup>a</sup> (mg/L)
		48 & 96 hr
19-KET-PC002	2019.11.29 -2019.12.23	0.990 <sup>b</sup>

a: Median lethal concentration  
b: Based on nominal concentration  
\* Test substance : 5,5-Dichlorophenol  
\* Test species : *Cyprinus carpio*



## 연구개발보고서 초록

과 제 명	(국문)친환경 선충방제제 선철이의 제품개선과 인증획득						
	(영문)Improve product and acquire certification of nematode biopesticide SEONCHEORI						
주관연구기관	(주)고려바이오연구소			주 관 연 구	(소속) (주)고려바이오연구소		
참 여 기 업				책 임 자	(성명) 허 운 덕		
총연구개발비 (100,000천원)	계	100,000천원		총 연구 기간	2020.04.20~ 2021.04.19		
	정부출연 연구개발비	72,000천원		총 참 여 연구 원 수	총 인 원	4명	
	기업부담금	28,000천원			내 부 인 원	4명	
	연구기관부담금			외 부 인 원			

○ 연구개발 목표 및 성과

본 연구는 선행연구를 통하여 개발된 시제품에 규산염백토를 추가하여, 선충 방제가의 편차를 개선하고, 작물 생육 증진효과를 증대시키는 것이며, 최종적으로 유기농업자재 목록공시를 등록하여 제후화를 하기 위함이다.

- 제품개선 : 규산염백토 추가로 인한 선충의 방제가 편차 개선
- 작물 생육 증진 효과 증대 : 수확량 및 생육 증진
- 시제품의 상품화 : 유기농업자재 목록공시, 이화학분석, 잔류농약검사, 약해시험, 독성시험

○ 연구내용 및 결과

- 시제품의 배합률(12가지 처리구)에 따른 살선충율 시험
- 선발된 처리구를 이용한 생육 및 약해 시험
- 시제품 액상 제형화
- 시제품 제작
- 시제품 현장 포장 실증 시험
- 외부기관 선충방제가, 작물재배 시험
- 유기농업자재 목록공시를 위한 이화학분석(주성분), 잔류농약검사, 약해시험, 독성시험 진행
- 유기농업자재 목록공시 신청

○ 연구성과 활용실적 및 계획

1. 연구성과 목표 대비 실적

성과 목표	연구기반지표										기타 (타 연구 활용 등)									
	지식 재산권			기술 실시 (이전)			사업화			기술 인증			학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용-홍보		
													논문	학술 발표	SC I			비 SC I	논문 평균 I F	정책 활용
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	건 수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출	투자유치		SC I	비 SC I	학술 발표	회	명	건	건		
단위	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	회	명	건	건			
가중치						20	30		10	30				10						

최종 목표					1	1,805		5		1					18			
1차 년도	목표				1	5				1					2			
	실적				1	8.5				1								
종료 1차년도						250		1							4			
종료 2차년도						350		2							4			
종료 3차년도						500		1							4			
종료 4차년도						700		1							4			
합 계	목표				1	1,108.5		4		1					14			
	실적				1	8.5				1								

## 2.유기농업자재 목록공시 등록

공시번호	공시-2-5-246	자재종류	총해관리용
상표명	선철이	자재명	식물추출물
공시기간	2020.10.28. ~2023.10.27	등재일자	2020.10.28
시험작물	당근, 상추, 오이 토마토, 호박	사용량	1,000배 희석

## 3.전문 연구인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	학위 취득 (석사)	2021		1			1						1

## 4.연구성과 활용계획

- 시제품을 유기농업자재 목록공시 등록을 완료하며 제품화를 진행하여, 이를 토대로 친환경 농자재 시장에 진출이 가능해졌다. 이에 국가보조사업, 농협계통계약 등을 통한 시장 확대와 PLS법으로 인하여 방제제사용에 제약이 많은 일반 관행농가 시장개척이 용이해져 매출에 많은 도움이 될 것으로 보인다.
- 기존의 방제제는 해충 방제라는 1가지 목표만 달성하는 제품이 대다수이며, 당사에서는 이를 보완하고자 해충방제와 작물생육이라는 2가지 효과를 가진 제품을 개발하였고, 새로운 시장을 개척하여 제품 시장이 확대될 것으로 보인다.
- 당사에서 개발한 제품을 이용하여 친환경인증 농가 및 작목반 등에 대한 시범포를 진행하고, 병해충에 대한 대농민교육 및 제품 사용 재배력, 선충 분석을 통한 농가의 선충 피해 방지에 대한 길을 제시해 줄 수 있을 것으로 기대된다.
- 또한 제품 개발 과정에서 발생한 미생물 분리 및 대량배양화 기술, 액상 제형화 기술 등을 바탕으로 하여 현장에서 필요한 제품의 개발에 능동적으로 대처할 수 있을 것으로 보인다.

# 자체평가의견서

## 1. 과제현황

		과제번호		120039-1	
사업구분	농림축산식품 연구개발사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	농식품연구성과 후속지원사업				주관
총괄과제				총괄책임자	
과제명	친환경 선충방제제 선철이의 제품개선과 인증획득			과제유형	개발
연구개발기관	(주)고려바이오연구소			연구책임자	허운덕
연구기간 연구개발비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	2020.04.20. ~ 2021.04.19	72,000	28,000	100,000
	2차년도				
	3차년도				
	4차년도				
	5차년도				
	계				
참여기업					
상대국	상대국연구개발기관				

※ 총 연구기간이 5차년도 이상인 경우 셀을 추가하여 작성 요망

2. 평가일 : 2021.06.21

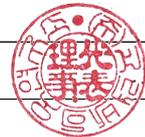
3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
(주)고려바이오연구소	대표이사	허운덕

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확 약



## 1. 연구개발실적

### 1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : (우수, 보통, 미흡, 극히불량)

본 연구는 식물기생성 선충에 의한 농가의 피해를 방지하고, 작물의 생육을 증진시키는데 최종 목적이 있다. 기존 기생성선충 방제제는 식물추출물이나 미생물 배양액을 이용하여 선충을 방제하는 한 가지 목적만을 가지고 제작되어 사용된다.

당사에서는 식물추출물, 토양 분리 균주 기탁 미생물, 규산염백토를 이용하여 선충 방제 효과를 증대해 조추출물과 규산염백토를 첨가하여 생육증진 효과를 볼 수 있어, 단일 제품으로 해충 방제와 생육 증진이 가능하여 농가의 편의성 증대와 생산비 감소에 영향을 미친다.

### 2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : (우수, 보통, 미흡, 극히불량)

미생물, 식물추출물, 광물질의 합제로 다양한 형태의 방제가 가능하고, 온도에 따른 방제의 편차가를 방지하며, 작물의 생육 증진효과를 볼 수 있는 제품으로, 단일제제로 2가지 효과를 볼 수 있는 제품 시장이 확대될 것으로 보인다. 또한 PLS제도에 적합하고, 환경오염에 영향을 미치지 않는 안전한 제품으로 토경재배 농가가 수경재배로 전환하지 않고도 지속적인 농사를 지을 수 있는 기틀을 마련하였다.

### 3. 연구개발결과에 대한 활용가능성

■ 등급 : (우수, 보통, 미흡, 극히불량)

본 제품은 유기농업자재 목록공시를 등록한 자재로 유기농업자재로의 활용이 가능하며 지자체 보조사업을 진행할 수 있고, 단일 제품이 해충 방제와 작물 생육 증진이라는 2가지 효과를 가지고 있어 꾸준한 수요가 발생할 것으로 보인다. 해당 제품을 이용한 시범포 진행, 대농민교육, 선충 분석을 통한 농가의 선충 피해 방지에 대한 길을 제시해 줄 수 있을 것이며, 제품 개발과정에서 발생한 다양한 제형에 대한 경험을 바탕으로 새로운 제품 개발에 영향을 줄 것으로 보인다.

### 4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

제품의 적합한 배합을 찾기 위하여 다양한 시제품을 제작하며 살충효과와 작물생육 증진효과를 시험하였으며, 이화학적 안전성 조사, 시제품 제작, 현장 포장 실증시험을 통한 제품의 성능을 실험하였다.

이를 바탕으로 하여 이화학분석, 잔류농약검사, 독성시험, 선충방제가 시험, 약해시험, 작물재배 시험을 외부 기관에 의뢰하여 객관적인 지표를 얻었으며, 이를 바탕으로 하여 목표로한 기한 내에 유기농업자재 목록공시를 등록할 수 있었다. 코로나로 인하여 농민 교육을 진행하지 못한 점이 아쉬웠다.

### 5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : 우수, 보통, 미흡, 극히불량)

- 해당사항 없음 -

## II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
규산염백토와 선철이의 배합률 및 희석배수 확정을 통한 시제품 제작	10	100	시제품 제작
선충방제가 시험 : 방제가 50%	10	100	시험평가 결과 : 77.12%
작물재배 시험 : 생육증진 10%	10	100	시험평가 결과 : 엽장 14.4%, 엽폭 10.9%, 생체량 22.5%, 건물증 16.3% 증가
현장 포장 실증 시험 : 4포장	5	100	4포장(고추, 오이, 멜론, 토마토 하우스 현장시험) 시험
유기농업자재 목록공시 : 1건	25	100	-
이화학분석 : Matrine	10	100	시험평가 결과 : 검출
잔류농약 검사 : 322성분	10	100	시험평가 결과 : 불검출
약해시험 : 5작물	10	100	시험평가 결과 : 약해 없음
독성시험 : 급성경구, 급성경피, 피부자극, 안점막자극, 어독성, 꿀벌독성	10	100	시험평가 결과 : 피해 없음
합계	100점	100	

## III. 종합의견

### 1. 연구개발결과에 대한 종합의견

본 연구의 개발 성과는 자체평가 결과 연구가 성실히 진행되었고, 이를 통하여 최종목표인 유기농업자재 목록공시 등록을 완료하였으며, 친환경방제제로 친환경재배 농가의 작물 생산에 크게 기여할 수 있을 것으로 보인다. 또한 개발 과정에서 축적된 제형화 기술, 이화학적 안전성분석, 실증실험, 시제품 제작 등의 경험으로 인하여 추후 개발된 새로운 제품의 개발에 크게 기여할 것으로 보인다.

### 2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

사업화(제품화, 매출액, 고용창출, 기술인증, 교육지도) 목표와 연구기반지표(교육지도) 뿐만 아니라 제품 개발과정에 필요한 연구개발 목표 달성도를 참고하여 평가가 이루어지길 바랍니다.

### 3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

본 연구를 통하여 유기농업자재 목록공시를 완료하여 국가 보조사업, 농협의 계통계약이 가능하여 시장의 확대에 의한 매출 증대 및 PLS법으로 인한 관행 농가의 시장 개척을 용이하게 할 수 있다. 수요처 특성에 맞는 유통전략을 구축하여 판매를 활성화하고, 본사에서 농가로 직접 판매하여 유통단계를 감소시켜 농가의 부담을 절감 가능하다. 또한 선충 방제제 시범포 운영 및 사용메뉴얼 교육, 선충분석을 통한 지속적인 농가와의 소통할 예정이다.

#### IV. 보안성 검토

- 해당사항 없음 -

##### 1. 연구책임자의 의견

- 해당사항 없음 -

##### 2. 연구개발기관 자체의 검토결과

- 해당사항 없음 -



# 연구성과 활용계획서

## 1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input checked="" type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야	
연구과제명	친환경 선충방제제 선철이의 제품개선과 인증획득		
주관연구개발기관	(주)고려바이오연구소	주관연구책임자	허 운 덕
연구개발비	정부지원 연구개발비	기관부담연구개발비	기타
	72,000,000	28,000,000	총연구개발비 100,000,000
연구개발기간	2020. 04. 20 ~ 2021. 04.19		
주요활용유형	<input type="checkbox"/> 산업체이전 <input checked="" type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타( 제품화 ) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유: )		

## 2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 기술인증(유기농업자재 목록공시 진행)	유기농업자재 목록공시 등록(2020.10.28.)
② 시제품의 제품화	시제품 제품화(선철이) 1건 완료
③ 제품의 매출액	2021년 6월 현재 매출액 8.5백만원 달성

\* 결과에 대한 의견 첨부 가능

## 3. 연구목표 대비 성과

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화				기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구활용등)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	S M A R T  평 가 제 도	건 수	기술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출		투 자 유 치	논문				학 술 발 표	정 책 활 용	
											SCI		비 SCI	논 문 평 관 I F					
단위	건	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	명	명	건	건	
가중치							20	30		10	30				10				
최종 목표							1	1,805		5	1				2				
당해 년도	목표						1	5			1				2				
	실적						1	8.5			1								
달성률 (%)							100	100			100				0				

#### 4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	유용 미생물의 분리 및 대량배양
②	액상 제형화 기술
③	

#### 5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	상품화	현장애로 해결	정책 자료	기타
①의 기술					√		√	√		
②의 기술					√		√	√		
③의 기술										
·										
·										

\* 각 해당란에 v 표시

#### 6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	미생물을 활용한 나비목류 해충의 친환경 총해방제용 작물보호제 개발
②의 기술	나비목류 해충의 방제제는 분상형태로 이루어진 제품이 많은데, 사용의 편의성을 위하여 액상으로 된 제품을 개발하는데 활용
③의 기술	

#### 7. 연구종료 후 성과창출 계획

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표								
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화				기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구활용액)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	SMART	건수	기술료	제품화	매출액	수출액	고용 창출		투자유치	논문 SCI	논문 비SCI			논문 평균 I-F	학술 발표	
단위	건	건	건	건	건	백만원	건	백만원	백만원	명	백만원	건	건	건	건	명	건	건	
가중치							20	30		10	30				10				
최종목표							1	1,805		5	1				18				
연구기간내 달성실적							1	6			1					1			
연구종료후 성과창출 계획								1,305		5					18				

## 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 농식품연구성과후속지원사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 농식품연구성과후속 지원사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.