

발 간 등 록 번 호

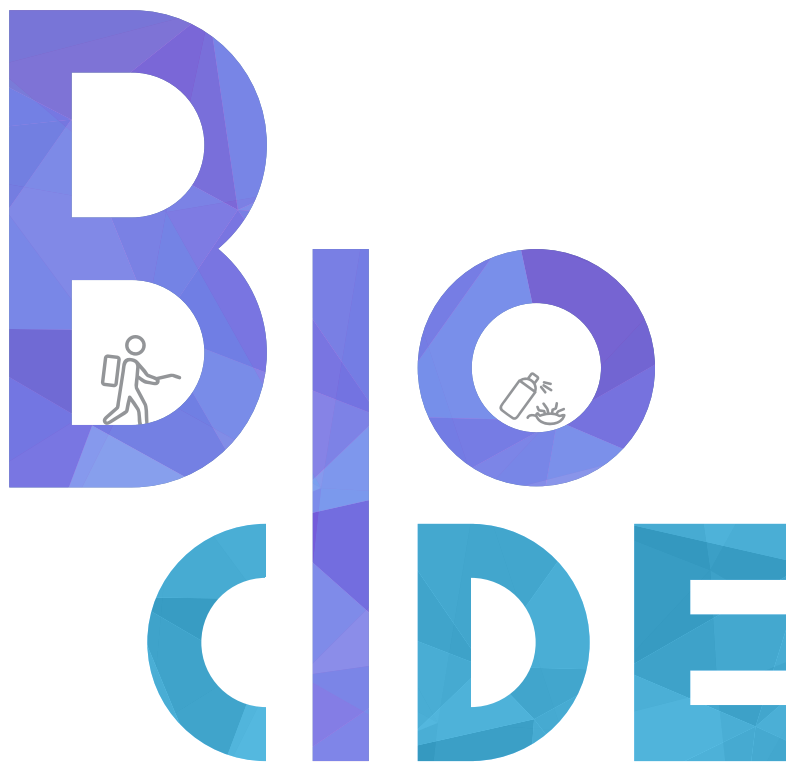
11-1480523-004404-01

NIER-GP2021-024

살생물제

효과·효능 시험방법 자료집 - 구제제류

2021. 12



환 경 부
국립환경과학원



.. 문서 이력 ..

번호	주요 제·개정사항	일자
1.	<ul style="list-style-type: none">• 살생물제 효과·효능 시험방법 자료집-구제제류• 발간등록번호: 11-1480523-004404-01• N I E R 번 호: NIER-GP2021-024	2021.12



.. 일러두기 ..

- ❖ 이 자료집은 살생물물질 및 살생물제품(이하 ‘살생물제’)의 효과·효능 시험방법 등에 관하여 승인 신청자 및 평가자의 이해를 돕기 위한 작성된 자료입니다.
- ❖ 이 자료집은 현재까지의 판단에 근거한 것으로 향후 법령 등이 개정될 경우, 법률 유권해석, 정책적 판단이 변화되는 경우, 또는 새로운 과학적·기술적 사실 등에 따라 달리 적용될 수 있습니다.
- ❖ 또한 법률, 시행령, 시행규칙, 고시, 예규 등이 정하는 사항을 종합적으로 고려하여 만든 참고자료로, 관련 법령 및 상위규칙에서 정하는 내용과 다를 경우에는 법령과 상위규칙을 우선 적용합니다.

※ 본 안내서에 대한 의견이나 문의사항은 국립환경과학원 환경건강연구부 화학물질연구과로 문의 바랍니다.

+ 전화 1800-4840 + 팩스 032-568-2039

목 차

1부 • 총칙	1
---------------	---

2부 • 살충제	15
----------------	----

모기(NIER-BP-E5-010)	17
바퀴벌레(NIER-BP-E5-011)	19
파리(NIER-BP-E5-012)	21
개미(NIER-BP-E5-013)	23
흰개미(NIER-BP-E5-014)	25
포복흡혈곤충(NIER-BP-E5-015)	27
벌(NIER-BP-E5-016)	29
저장물해충(NIER-BP-E5-017)	31
섬유가해해충(NIER-BP-E5-018)	33
실험실시험 - 미량국소처리시험방법(NIER-BP-E5-100)	35
실험실시험 - 접촉시험방법(NIER-BP-E5-101)	39
실험실시험 - 훈증시험방법(NIER-BP-E5-102)	43
실험실시험 - 배지혼합시험방법(NIER-BP-E5-103)	47
실험실시험 - 직접분사시험방법(NIER-BP-E5-104)	50
실험실시험 - 공간분사시험방법(NIER-BP-E5-105)	53
실험실시험 - 수증처리시험방법(NIER-BP-E5-106)	57
실험실시험 - 증산(휘산)시험방법(NIER-BP-E5-107)	60
실험실시험 - 독먹이시험방법(NIER-BP-E5-108)	64
실험실시험 - 흰개미의 독먹이시험방법(NIER-BP-E5-109)	67
실험실시험 - 흰개미의 토양처리시험방법(NIER-BP-E5-110)	70

모의사용시험 -직접분사 모의사용시험방법(NIER-BP-E5-200)	74
모의사용시험 -접촉(잔류) 모의사용시험방법(NIER-BP-E5-201)	78
모의사용시험 -공간분사 모의사용시험방법(NIER-BP-E5-202)	81
모의사용시험 -독먹이 모의사용시험방법(NIER-BP-E5-203)	84
모의사용시험 -수중처리 모의사용시험방법(NIER-BP-E5-204)	88
모의사용시험 -저장물해충의 혼증독성 모의사용시험방법(NIER-BP-E5-205)	91
모의사용시험 -섬유가해해충의 혼증독성 모의사용시험방법(NIER-BP-E5-206)	95

3부 · 기피제 99

모기(NIER-BP-E7-010)	101
저장물해충(NIER-BP-E7-011)	103
섬유가해해충(NIER-BP-E7-012)	105
실험실시험 - 비행곤충의 공간기피시험방법(NIER-BP-E7-100)	107
실험실시험 - 비행흡혈곤충의 숙주탐색저해시험방법(NIER-BP-E7-101)	112
실험실시험 - 포복곤충의 유인억제시험방법(NIER-BP-E7-102)	116
실험실시험 - 선택적 기피시험방법(NIER-BP-E7-103)	120
실험실시험 -비선택적 기피시험방법(NIER-BP-E7-104)	126
모의사용시험 -비행흡혈곤충의 공간기피시험방법(NIER-BP-E7-200)	130
모의사용시험 -저장물해충의 유인억제시험방법(NIER-BP-E7-201)	134
모의사용시험 -섬유가해해충의 선택적 기피시험방법(NIER-BP-E7-202)	138

1부

총칙

구제제류 - 총칙

2021

Pest control - Introduction

1.0 개요

1.1 목적

이 시험방법은 구제제류의 효과·효능 평가를 위한 시험방법으로 「생활화학제품 및 살생물제의 안전관리에 관한 법률」(이하 “법”이라 한다)에 따른 살생물제 승인제도의 원활한 이행을 지원하기 위해 마련되었다.

1.2 적용범위

구제제류의 효과·효능은 표적생물체에 대한 제거/통제/기피 등의 구제 작용으로, 살생물제의 용도에 따라 대표 표적생물체 및 시험대상 생물체를 결정하고, 제품의 적용방법에 따라 적합한 시험방법을 선택하여야 한다.

2.0 관련 용어

2.1 해충(Insect pest) : 인간의 생활에 직접 또는 간접으로 해를 주는 곤충을 총칭 한다.

2.2 포복곤충(Crawling insect) : 주로 육상에서의 포복보행을 통해 이동 및 활동하는 곤충의 집단이다.

2.3 포복흡혈곤충(Crawling blood-sucking insects) : 포복곤충 중 흡혈활동을 하는 집단이다.

2.4 비행곤충(Flying insect) : 주로 비행을 통해 이동 및 활동하는 곤충의 집단이다.

2.5 비행흡혈곤충(Flying blood-sucking insect) : 비행곤충 중 흡혈활동을 하는 집단이다.

2.6 저장물해충(Stored product insect pest) : 저장된 곡물, 약초, 과일 등을 가해하여 직간접적으로 피해를 주는 곤충의 집단이다.

2.7 섬유가해해충(Textile-attacking insect pest) : 식물성 및 동물성 원단 및 의류를 가해하여 직간접적으로 피해를 주는 곤충의 집단이다.

2.8 곤충성장조절제(Insect growth regulator, IGR) : 곤충의 성장과 생활사의 완성에 필수적인 내분비계의 교란을 통해 살충효과를 내는 물질들의 집합이다.

2.9 Abbott 식 : Walter Sidney Abbott가 1925년에 발표한 식으로, 대조구의 결과를 이용해 곤충의 자연사율을 고려하여 시험구에서 관찰된 살충효율을 보정하는 방법이다.

2.10 저항성(또는 내성, Resistance) : 구제제류에 대한 저항성이라고 하면 그 곤충의 정상적인 집단에 있어 대다수의 개체에 치명적이어야 할 용량에 견뎌내는 능력이 그 계통에 발달했다는 것을 의미한다.

2.11 감수성(Sensitivity) : 해당 살생물제에 의해 제거/통제/기피 등의 영향 또는 작용을 받기 쉬운 상태를 말한다. 구제제류에 감수성이 있다고 하는 것은 그 구제제류가 잘 작용한다는 것 또는 그 정도를 말한다.

2.12 교차저항성(Cross resistance) : 하나의 구제제류에 대해 어느 개체군이 저항성을 획득하였을 때, 그 집단이 다른 구제제류에 대해서도 저항성을 나타내는 현상을 의미한다.

2.13 녹다운(KD, knock down) : 구제제류에 의해 곤충이 마비되는 것으로 곤충들이 쓰러져 원래의 움직임이 불가능한 상태로 있는 것을 의미한다. 완전히 치사한 것이 아니므로 소생하는 경우도 있다.

2.14 KT₅₀(Median knockdown time) : 시험생물 개체군의 50%가 녹다운 되는데 소요되는 시간으로, 시험물질의 속효성을 평가하는 지표이다.

2.15 LT₅₀(Median lethal time) : 대상생물 개체군의 50%가 치사하는데 소요되는 시간. 시험물질의 속효성을 평가하는 지표이다.

2.16 LD₅₀(Median lethal dose) : 50% 치사량이라고도 표기할 수 있다. 개체군의 50%를 치사시키는 시험물질의 양을 의미하며 시험생물의 체중 당 시험물질의 중량(예, µg/g)으로 표시한다.

2.17 LC₅₀(Median lethal concentration) : 50% 치사농도라고도 표기할 수 있다. 시험생물 개체군의 50%를 치사시킬 수 있는 시험물질의 농도(예, mg/L)를 말한다.

2.18 속효성(Rapid action) : 살생물제를 대상생물에 처리하였을 때 증상의 발현이 다른 성분과 비교하였을 때 빠르거나 사망까지의 시간이 짧은 것을 의미한다.

2.19 지효성(Slow action) : 속효성에 대비되는 용어로서 시험생물의 비행능력이나 보행능력을 잃게 하는 작용의 발현이 느린 것을 의미한다.

2.20 잔효성(Residual action) : 살생물제를 처리하였을 때 효력이 장기간에 걸쳐 지속하는 것이다.

2.21 치사(Mortality) : 전혀 움직이지 않는 상태이므로 자극을 가해도 생명 활동이 보이지 않는 것을 의미한다.

2.22 표적생물체(Target organism): 살생물물질/살생물제품의 기능은 제어하고자 하는 유해생물에 대한 제어작용(살균, 살충, 기피 및 유인 등)으로, 표적생물체는 제어대상이 되는 생물체를 말한다.

2.23 대표 표적생물체(Representative target organism): 표적생물체 중에서 효과·효능 시험 시, 대표성을 나타낼 수 있는 생물체를 대표 표적생물체로 표현한다.

2.24 시험대상생물체(Testing organism) 및 대표 시험대상생물체(Representative testing organism): 시험대상생물체는 효과·효능 시험을 실제 시험하는 대상생물체로, 시험대상생물체 중 대표 표적생물체에 대한 효과·효능을 입증하기 위해 필수적으로 시험해야 하는 시험대상생물체를 대표 시험대상생물체로 표현한다.

예) 표적생물체 - 포복곤충(crawling insects); 대표 표적생물체 - 바퀴벌레; 대표 시험대상생물체: 독일바퀴벌레, 미국바퀴벌레

3.0 살충제 효과·효능 평가를 위한 대표 시험대상생물체

살충제 효과·효능 평가를 위한 시험대상생물체 및 대표 시험대상생물체는 아래 표와 같으며, 표적생물체 또는 대표 표적생물체에 대해 살생물제품의 효과·효능을 주장하기 위해서는 적절한 대표 시험대상생물체를 선택하여 시험하여야 한다. 아래 명시한 시험대상생물체 이외의 생물체에 대한 시험은 해당 제품의 사용 용도에 대한 대상 생물체의 연관성을 인정할 수 있는 과학적 근거가 뒷받침 된 경우에 한하여 인정될 수 있다.

표 1. 대표 표적생물체별 시험대상생물체 구분

대표 표적생물체	시험대상생물체	대표 시험대상생물체
모기	얼룩날개모기류(<i>Anopheles</i> spp.) 금빛숲모기(<i>Aedes vexans nipponii</i>) 작 은 빨 간 집 모 기 (<i>C u l e x tritaeniorhynchus</i>) 빨간집모기군(<i>Culex pipiens</i> complex) 흰줄숲모기(<i>Aedes albopictus</i>)	‘모기’의 방제를 제품 라벨에서 주장하고자 하는 경우 <i>Culex</i> 속 모기 1종, <i>Aedes</i> 속 모기 1종, 총 2종에 대한 평가를 모두 완료하여야 한다.
바퀴벌레	독일바퀴(<i>Blattella germanica</i>) 집바퀴(<i>Periplaneta japonica</i>) 먹바퀴(<i>Periplaneta fuliginosa</i>) 이질바퀴(<i>Periplaneta americana</i>)	‘바퀴벌레’의 방제를 제품 라벨에서 주장하고자 하는 경우 독일바퀴 또는 집바퀴 중 1종에 대한 평가를 완료하여야 한다.
파리	집파리(<i>Musca domestica</i>) 나방파리(<i>Tinearia alternata</i>) 노랑초파리(<i>Drosophila melanogaster</i>) 벼룩파리(<i>Diplonevra bifasciata</i>) 쉬파리과(<i>Sarcophagidae</i>)	‘파리’의 방제를 제품 라벨에서 주장하고자 하는 경우 집파리 1종에 대한 평가를 완료하여야 한다.

	구리금파리(<i>Lucilia sericata</i>)	
개미	애집개미(<i>Monomorium pharaonis</i>) 유령개미(<i>Tapinoma melanocephalum</i>)	‘개미’의 방제를 제품 라벨에서 주장하고자 하는 경우 애집개미 또는 유령개미 중 1종에 대한 평가를 완료하여야 한다.
흰개미	흰개미 (<i>Reticulitermes speratus kyushuensis</i>) 집흰개미 (<i>Coptotermes formosanus formosanus</i>) 칸몬흰개미(<i>Reticulitermes kanmonensis</i>)	‘흰개미’의 방제를 제품 라벨에서 주장하고자 하는 경우 국내의 우점종인 흰개미에 대한 평가를 완료하여야 한다.
포복흡혈곤충	참진드기류(<i>Haemaphysalis</i> spp.) 털진드기류(<i>Leptotrombidium</i> spp.) 빈대(<i>Cimex lectularius</i>) 반날개빈대(<i>Cimex hemipterus</i>) 열대취머룩(<i>Xenopsylla cheopis</i>) 개머룩(<i>Ctenocephalides canis</i>) 고양이머룩(<i>Ctenocephalides felis</i>) 일본취머룩(<i>Ceratophyllus anisus</i>)	‘포복흡혈곤충’의 경우 해당하는 표적생물이 다양하므로, 실제 시험에 사용된 종을 라벨에 기재하도록 한다.
벌	말벌류(<i>Vespa</i> spp.) 땅벌류(<i>Vespula</i> spp.) 뱀허물쌍살벌류(<i>Parapolybia</i> spp.) 쌍살벌류(<i>Polistes</i> spp.)	생활 환경에서 접할 수 있는 말벌속, 땅벌속 및 쌍살벌속에 속하는 벌을 시험종으로 선정하며, 평가에 사용한 종을 라벨에 명시하도록 한다.
저장물해충	보리나방(<i>Sitotroga cerealella</i>) 거릿쌀도둑거저리(<i>Tribolium castaneum</i>) 어리쌀도둑거저리(<i>Tribolium confusum</i>) 어리쌀바구미(<i>Sitophilus zeamais</i>) 쌀바구미(<i>Sitophilus oryzae</i>) 머리대장가는납작벌레 (<i>Oryzaephilus surinamensis</i>) 화랑곡나방(<i>Plodia interpunctella</i>) 아메리카왕거저리(<i>Zophobas morio</i>) 권연벌레(<i>Lasioderma serricorne</i>) 인삼벌레(<i>Stegobium paniceum</i>) 팔바구미(<i>Callosobruchus chinensis</i>) 등	‘저장물해충’의 방제를 제품 라벨에서 주장하고자 하는 경우 국내의 우점종인 어리쌀바구미와 화랑곡나방 2종에 대한 평가를 모두 완료하여야 한다.

섬유가해해충	곡식좀나방(<i>Nemapogon granella</i>) 거미줄옷좀나방(<i>Tineola bisselliella</i>) 옷좀나방(<i>Tinea translucens</i>) 좀류(<i>Ctenolepisma</i> spp.) 애수시렁이 (<i>Attagenus unicolor japonicus</i>) 먼지다듬이류(<i>Liposcelis</i> spp.) 등	‘섬유가해해충’의 방제를 제품 라벨에서 주장하고자 하는 경우 좀류에 대한 시험을 필수적으로 포함하고 옷좀나방, 애수시렁이, 먼지다듬이류 중 1종을 추가로 평가하도록 한다.
--------	--	---

4.0 기피제 효과·효능 평가를 위한 대표 시험대상생물체

기피제 효과·효능 평가를 위한 시험대상생물체 및 대표 시험대상생물체는 아래 표와 같으며, 표적생물체 또는 대표 표적생물체에 대해 살생물제품의 효과·효능을 주장하기 위해서는 적절한 대표 시험대상생물체를 선택하여 시험하여야 한다. 아래 명시한 시험대상생물체 이외의 생물체에 대한 시험은 해당 제품의 사용 용도에 대한 대상 생물체의 연관성을 인정할 수 있는 과학적 근거가 뒷받침 된 경우에 한하여 인정될 수 있다.

표 1. 대표 표적생물체별 시험대상생물체 구분

대표 표적생물체	시험대상생물체	대표 시험대상생물체
모기	얼룩날개모기류(<i>Anopheles</i> spp.) 금빛숲모기(<i>Aedes vexans nipponii</i>) 작은빨간집모기(<i>Culex tritaeniorhynchus</i>) 빨간집모기군(<i>Culex pipiens</i> complex) 흰줄숲모기(<i>Aedes albopictus</i>)	‘모기’의 방제를 제품 라벨에서 주장하고자 하는 경우 <i>Culex</i> 속 모기 1종, <i>Aedes</i> 속 모기 1종, 총 2종에 대한 평가를 모두 완료하여야 한다.
저장물해충	보리나방(<i>Sitotroga cerealella</i>) 거릿쌀도둑거저리(<i>Tribolium castaneum</i>) 어리쌀도둑거저리(<i>Tribolium confusum</i>) 어리쌀바구미(<i>Sitophilus zeamais</i>) 쌀바구미(<i>Sitophilus oryzae</i>) 머리대장가는납작벌레 (<i>Oryzaephilus surinamensis</i>) 화랑곡나방(<i>Plodia interpunctella</i>) 아메리카왕거저리(<i>Zophobas morio</i>) 권연벌레(<i>Lasioderma serricorne</i>) 인삼벌레(<i>Stegobium paniceum</i>) 팔바구미(<i>Callosobruchus chinensis</i>) 등	‘저장물해충’의 기피를 제품 라벨에서 주장하고자 하는 경우 국내의 우점종인 어리쌀바구미와 화랑곡나방 2종에 대한 평가를 모두 완료하여야 한다.

섬유가해해충	곡식좀나방(<i>Nemapogon granella</i>) 거미줄옷좀나방(<i>Tineola bisselliella</i>) 옷좀나방(<i>Tinea translucens</i>) 좀류(<i>Ctenolepisma</i> spp.) 애수시렁이 (<i>Attagenus unicolor japonicus</i>) 먼지다듬이류(<i>Liposcelis</i> spp.) 등	‘섬유가해해충’의 기피를 제품 라벨에서 주장하고자 하는 경우 좀류에 대한 시험을 필수적으로 포함하고 옷좀나방, 애수시렁이, 먼지다듬이류 중 1종을 추가로 평가하도록 한다.
--------	--	---

* 다른 대표 표적생물체에 대한 시험대상생물체는 추후 제시 예정

5.0 일반사항

5.1 시험대상생물종 및 시험방법의 선택

5.1.1 살생물물질의 용량별 효과·효능 시험 및 살생물제품의 제형별 효과·효능 시험을 위해서는 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택하여 수행할 수 있다.

5.1.2 제시된 시험방법 상의 시험용기 크기, 물질 처리방법 등이 대상생물에 적절하지 않은 경우 시험의 목적에 맞게 시험방법을 변경할 수 있으나, 이 경우 시험보고서에 제시된 시험방법과의 차이 및 변경 근거를 명시한 비교표를 함께 작성하여 제출하도록 한다.

5.1.3 질병을 매개하는 것으로 알려진 모기, 바퀴벌레, 파리 등의 대상생물을 야외에서 채집하여 평가를 진행하는 경우에는 질병 병원균 검사 등 시험자의 안전을 위한 적절한 조치를 취하도록 한다.

5.1.4 대상생물의 사육 및 시험과정에서 흡혈을 위한 실험동물의 제공, 기피효과 평가 등을 위한 인간 참가자의 연구 참여 등이 요구되는 경우 관련 법령에 따라 동물실험윤리위원회, 국가생명윤리심의위원회 등의 승인자료를 함께 제출하도록 한다.

5.1.5 필요 시, 대상생물의 종 동정 자료를 제출해야 한다.

5.2 살생물물질에 대한 시험방법

5.2.1 살생물물질에 대한 시험에서는 각 대상생물별로 제시된 시험방법에 따라 평가한 원자료(raw data) 및 이에 대한 통계처리 결과(probit 분석 등)를 보고한다.

5.2.2 시험결과 뿐만 아니라 평가에 사용한 대상생물의 출처, 채집지, 구제제류에 대한 감수성 여부, 실내에서 계대사육 한 경우 사육조건, 실험실 조건, 시험방법 등을 상세히 기재하고 이를 함께 보고한다.

5.2.3 살생물물질에 대한 시험방법의 선정은 대표예시제품의 작용방식과 일관성 및 연계성을 갖고 있어야 한다. 예를 들어, 대표예시제품이 대상 곤충에 직접 접촉하여 치사효과를 나타내는 경우에는 접촉시험방법에 따른 살생물물질의 치사효과를 평가하도록 한다.

5.2.4 살생물물질 승인을 위한 대표예시제품의 효과를 평가할 때에는 제품의 라벨에서 주장하는 효과 지속시간은 판정하지 않을 수 있다(예를 들어, 6개월 지속 등).

5.2.5 국외의 공인된 살생물제 시험방법(US EPA, 일본 후생노동성, 중국 농업농촌부, WHO 등)을 사용한 경우, 승인기관에서 확인이 가능하도록 사용한 시험방법 번호를 포함한 시험방법의 정식 명칭을 함께 기재한다.

5.3 살생물제품에 대한 시험방법

5.3.1 살생물제품에 대한 시험은 실험실시험, 모의사용시험 및 현장시험으로 구분된다.

5.3.2 실험실시험을 진행할 때는 일반적으로 제품 내 살생물물질의 함량을 기준으로 실제 함량(기준량), 1/2배(반량) 및 2배(배량) 총 3가지 농도조건에서 시험을 진행하여 제품 내 살생물물질 농도 설정의 적절성을 평가하도록 한다.

5.3.3 경우에 따라 제품 내 살생물물질의 농도 조절이 어려운 경우에는 단일 농도에서 시간에 따른 효과·효능의 변화 정도(녹다운 속도 등)를 평가할 수 있다.

5.3.4 살생물제품의 모의사용시험에서는 제품의 라벨에 기재된 내용을 적절히 모사한

시험환경에서 최종적인 녹다운 효과 및 치사율을 조사하도록 하며, 라벨의 모든 내용에 대한 시험을 진행하여야 한다.

5.3.5 각 대상생물별로 제시된 시험방법에 따라 평가한 최종 치사율 혹은 기피율, 원자료 및 이에 대한 통계처리 결과를 보고한다.

5.3.6 국외의 공인된 살생물제 시험방법(US EPA, 일본 후생노동성, 중국 농업농촌부, WHO 등)을 사용한 경우, 승인기관에서 확인이 가능하도록 사용한 시험방법 번호를 포함한 시험방법의 정식 명칭을 함께 기재한다.

5.3.7 제시된 시험방법을 기준으로 살생물제품에 대한 효과·효능 시험을 진행하였을 때, 장기간 사용하는 제품의 경우 평가제품의 라벨에서 주장하는 사용 기간을 기준으로 제품의 개봉 시점, 50% 및 90% 사용 완료 시점에 대한 시험을 실시한다.

6.0 시험결과의 보고

구제제류 승인을 위해 제출되는 효과·효능 시험보고서에는 개요, 시험대상생물종, 시험물질(제품) 및 방법, 원자료, 시험결과 및 통계분석자료, 결론 및 시험기관(시험자)의 정보 등이 포함되어야 한다. 또한, 시험물질(제품)의 함량분석에 따른 조성정보를 별도 서류로서 제출하여야 한다.

7.0 통계처리 방법

7.1 통상적으로 살생물물질의 살충효과는 반수치사량 혹은 반수치사농도값(LD₅₀ 혹은 LC₅₀, 실험 조건에서 개체군의 반을 치사시킬 수 있는 약량 혹은 농도)을 산정하여 보고하도록 한다.

7.2 통계적 관점에서 반수치사량 및 반수치사농도는 3개의 처리농도에서의 치사율 값을 이용하여 판정할 수 있으나, 해당 방식에 의한 산정은 신뢰도가 매우 낮으므로 최소한 4개의 구간(치사율 구간 예시; 5~30% 구간 내 약량 1개, 30~50% 구간 내 1개, 50~70% 구간 내 1개 및 70~95% 구간 내 1개 등)의 결과값을 기준으로 판정하나, 5~8개의 지점에서 평가한 값을 대상으로 판정하는 것이 바람직하다.

7.3 반수치사량 및 농도를 판정한 원자료에 대한 분석 시 주의할 점은 해당 값을 판정하는 데 사용된 원자료의 개수가 아니라 치사율별 분포를 확인하여야 하며, 상술한 바와 같이 50% 치사율 주변에 최소한 2개의 데이터 포인트가 확보되었는지, 그 아래(5~30%) 혹은 위(70~95%)의 치사율이 확보되었는지를 확인해야 하며, 통계분석 결과에 따른 p-value, 카이제곱값 등을 보조적으로 함께 평가한다.

7.4 반수치사량 및 농도는 여러 개 살생물물질의 효과·효능을 상대적으로 비교하는 데에 효과적이며, 반수치사량 및 농도가 높다고 해서(동일한 50% 치사율을 확보하기 위해 더 높은 약량/농도가 필요하다는 의미이다) 무조건적으로 해당 살생물물질의 가치가 떨어진다고는 보기 어렵다.

7.5 예를 들어 더 낮은(효과적인) 반수치사량을 갖고 있는 물질을 소량으로 제품에 적용하는 경우에 비해, 더 높은 반수치사량을 가진 물질을 더 높은 농도로 제품에 함유하는 경우 제품에 있어 더 높은 효과·효능을 확보할 수 있게 된다.

7.6 다만 반수치사량이 해당 시험방법에서 산정되기 어려운 경우, 예를 들어 시험방법에서 적용할 수 있는 최대치의 약량에서도 50% 이상의 치사율을 확보하지 못하는 경우, 해당 물질의 살생물기능은 적용된 시험방법으로는 판정하기 어려우며, 통상적으로 살생물기능이 없다고 판단하는 것이 타당하다.

7.7 구제제의 반수치사량 및 농도는 일반적으로 Finney가 제안한 회귀분석(Probit analysis) 방법을 통해 판정하며, 주로 SAS, SPSS 등의 통계처리 프로그램을 이용하여 예측하게 된다.

7.8 효과·효능 시험은 최소한 3반복으로 실시하되, 시료의 준비, 회석 등의 준비과정을 포함하여 대상생물 또한 3개의 독립된 사육상을 이용하여 별도의 시험을 진행하여야 한다.

7.9 많은 평가자들이 보이는 실수는 동일한 시료를 대상으로 하나의 사육상에서 개체군을 가져와 3등분하여 평가를 진행한 후 3반복으로 시험을 진행하였다고 보고하는데, 생물통계학적 관점에서 해당 경우는 동일한 개체군을 대상으로 1회 시험을 진행한 것이므로 진정한 의미의 3반복이라고 보기 어렵다(pseudo-replication).

7.10 통상적으로 반수치사량의 단위는 대상생물의 단위중량 당 처리약량(예를 들어 ng/mg body weight)으로 표기한다.

2부

살충제

살충제 - 모기

2021

Insecticide - Mosquitoes

1.0 목적

살충제 중 모기 방제를 위한 살생물물질 및 살생물제품의 효과·효능을 평가하기 위한 시험대상생물종 및 시험방법의 종류를 제시하였다.

1.1 시험대상생물종

1.1.1 본 시험방법에서 대상으로 하는 모기로는 얼룩날개모기류(*Anopheles* spp.), 금빛 숲모기(*Aedes vexans nipponii*), 작은빨간집모기(*Culex tritaeniorhynchus*), 빨간집모기 군(*Culex pipiens* complex), 흰줄숲모기(*Aedes albopictus*) 등이 있다.

1.1.2 살생물제품의 라벨 상에 ‘모기’를 방제 대상으로 기재하고자 하는 경우 *Culex* 속 모기 1종, *Aedes* 속 모기 1종, 총 2종에 대한 평가를 모두 완료하여야 한다.

1.2 살생물물질에 대한 시험

모기에 대한 살생물물질의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	미량국소처리시험방법 NIER-BP-E5-100	소량의 살생물물질을 시린지를 이용하여 시험곤충에 직접 처리
실험실시험	접촉시험방법 NIER-BP-E5-101	특정 표면에 살생물물질을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가

실험실시험	수중처리시험방법(유충) NIER-BP-E5-106	일정량의 물에 살생물물질의 농도별로 희석한 후 모기 유충을 투입하여 살충효과를 평가
-------	--------------------------------	--

1.3 살생물제품에 대한 시험

모기에 대한 살생물제품의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	접촉시험방법 NIER-BP-E5-101	특정 표면에 살생물제품을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가
실험실시험	공간분사시험방법 NIER-BP-E5-105	소형 챔버에 제품을 처리하여 살충효과를 평가
실험실시험	직접분사시험방법 NIER-BP-E5-104	일정 거리에 대상생물을 배치하고 살생물물질의 농도 혹은 분사량을 달리한 제품을 직접 분사하여 살충효과를 평가
실험실시험	증산(회산)시험방법 NIER-BP-E5-107	모기향, 전자모기향 등의 제품을 챔버 내에서 작동하여 살충효과를 평가
실험실시험	수중처리시험방법(유충) NIER-BP-E5-106	일정량의 물에 살생물제품을 희석한 후 모기 유충을 투입하여 살충효과를 평가
모의사용시험	직접분사 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-200	제품 라벨의 유효 효능거리 및 사용방법을 따라 처리하였을 때 최종 살충효과를 평가
모의사용시험	접촉(잔류) 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-201	분무제 등의 제품을 특정 표면에 처리한 이후 시험곤충을 노출하여 효과를 평가, 처리표면의 효력유지정도를 측정
모의사용시험	공간분사 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-202	분사제, 에어로졸 등 일정 공간 전체를 처리하는 제품의 효과를 목적 공간의 크기에서 평가
모의사용시험	수중처리 모의사용시험방법(유충) NIER-BP-E5-204	라벨의 사용방법을 따라 처리하였을 때의 최종 살충효과를 평가

살충제 - 바퀴벌레

2021

Insecticide - Cockroaches

1.0 목적

살충제 중 바퀴벌레 방제를 위한 살생물물질 및 살생물제품의 효과·효능을 평가하기 위한 시험대상생물종 및 시험방법의 종류를 제시하였다.

1.1 시험대상생물종

1.1.1 본 시험방법에서 대상으로 하는 바퀴벌레로는 독일바퀴(*Blattella germanica*), 집바퀴(*Periplaneta japonica*), 먹바퀴(*Periplaneta fuliginosa*), 이질바퀴(*Periplaneta americana*) 등이 있다.

1.1.2 살생물제품의 라벨 상에 ‘바퀴벌레’를 방제 대상으로 기재하고자 하는 경우에는 독일바퀴 또는 집바퀴 중 1종에 대한 평가를 완료하여야 한다.

1.2 살생물물질에 대한 시험

바퀴벌레에 대한 살생물물질의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실 시험	미량국소처리시험방법 NIER-BP-E5-100	소량의 살생물물질을 시린지를 이용하여 시험곤충에 직접 처리
실험실 시험	접촉시험방법 NIER-BP-E5-101	특정 표면에 살생물물질을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가

1.3 살생물제품에 대한 시험

바퀴벌레에 대한 살생물제품의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	독먹이시험방법 NIER-BP-E5-108	독먹이 제형의 살생물제품을 농도별로 제공하여 살충효과를 평가
실험실시험	접촉시험방법 NIER-BP-E5-101	특정 표면에 살생물제품을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가
실험실시험	직접분사시험방법 NIER-BP-E5-104	일정 거리에 대상생물을 배치하고 살생물물질의 농도 혹은 분사량을 달리한 제품을 직접 분사하여 살충효과를 평가
실험실시험	공간분사시험방법 NIER-BP-E5-105	소형 챔버에 제품을 처리하여 살충효과를 평가
모의사용시험	직접분사 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-200	제품 라벨의 유효 효능거리 및 사용방법을 따라 처리하였을 때 최종 살충효과를 평가
모의사용시험	접촉(잔류) 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-201	분무제 등의 제품을 특정 표면에 처리한 이후 시험곤충을 노출하여 효과를 평가, 처리표면의 효력유지정도를 측정
모의사용시험	독먹이 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-203	독먹이 형태 제품의 실제사용조건을 모사한 시험환경에서 유인효과, 살충효과 및 약효유지시간을 평가
모의 사용시험	공간분사 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-202	분사제, 에어로졸 등 일정 공간 전체를 처리하는 제품의 효과를 목적 공간의 크기에서 평가

살충제 - 파리

2021

Insecticide - Flies

1.0 목적

살충제 중 파리 방제를 위한 살생물물질 및 살생물제품의 효과·효능을 평가하기 위한 시험대상생물종 및 시험방법의 종류를 제시하였다.

1.1 시험대상생물종

1.1.1 본 시험방법에서 대상으로 하는 파리로는 집파리(*Musca domestica*), 나방파리(*Tinearia alternata*), 노랑초파리(*Drosophila melanogaster*), 벼룩파리(*Diplonevra bifasciata*), 썩파리과(*Sarcophagidae*), 구리금파리(*Lucilia sericata*) 등이 있다.

1.1.2 살생물제품의 라벨 상에 ‘파리’를 방제 대상으로 기재하고자 하는 경우에는 집파리 1종에 대해 평가를 완료하여야 한다.

1.2 살생물물질에 대한 시험

파리에 대한 살생물물질의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	미량국소처리시험방법 NIER-BP-E5-100	소량의 살생물물질을 시린지를 이용하여 시험곤충에 직접 처리
실험실시험	접촉시험방법 NIER-BP-E5-101	특정 표면에 살생물물질을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가

실험실시험	배지혼합시험방법(유충) NIER-BP-E5-103	유충을 사육하는 사료(배지)에 다양한 농도의 평가대상 살생물물질을 혼합하여 급여 후 살충효과를 평가
-------	--------------------------------	---

1.3 살생물제품에 대한 시험

파리에 대한 살생물제품의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	접촉시험방법 NIER-BP-E5-101	특정 표면에 살생물제품을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가
실험실시험	직접분사시험방법 NIER-BP-E5-104	일정 거리에 대상생물을 배치하고 살생물물질의 농도 혹은 분사량을 달리한 제품을 직접 분사하여 살충효과를 평가
실험실시험	공간분사시험방법 NIER-BP-E5-105	소형 챔버에 제품을 처리하여 살충효과를 평가
실험실시험	독먹이시험방법 NIER-BP-E5-108	독먹이 제형의 살생물제품을 농도별로 제공하여 살충효과를 평가
실험실시험	배지혼합시험방법(유충) NIER-BP-E5-103	유충을 사육하는 사료(배지)에 다양한 농도의 평가대상 살생물제품을 혼합하여 급여 후 살충효과를 평가
모의사용시험	직접분사 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-200	제품 라벨의 유효 효능거리 및 사용방법을 따라 처리하였을 때의 최종 살충효과를 평가
모의사용시험	접촉(잔류) 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-201	분무제 등의 제품을 특정 표면에 처리한 이후 시험곤충을 노출하여 효과를 평가, 처리표면의 효력유지정도를 측정
모의사용시험	공간분사 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-202	분사제, 에어로졸 등 일정 공간 전체를 처리하는 제품의 효과를 목적 공간의 크기에서 평가
모의사용시험	독먹이 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-203	독먹이 형태 제품의 실제사용조건을 모사한 시험환경에서의 유인효과, 살충효과 및 약효 유지시간을 평가

살충제 - 개미

2021

Insecticide - Ants

1.0 목적

살충제 중 개미 방제를 위한 살생물물질 및 살생물제품의 효과·효능을 평가하기 위한 시험대상생물종 및 시험방법의 종류를 제시하였다.

1.1 시험대상생물종

1.1.1 본 시험방법에서 대상으로 하는 개미로는 애집개미(*Monomorium pharaonis*), 유령개미(*Tapinoma melanocephalum*) 등이 있다.

1.1.2 살생물제품의 라벨 상에 ‘개미’를 방제 대상으로 기재하고자 하는 경우에는 애집개미 또는 유령개미 중 1종에 대해 평가를 완료하여야 한다.

1.2 살생물물질에 대한 시험

개미에 대한 살생물물질의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	접촉시험방법 NIER-BP-E5-101	특정 표면에 살생물물질을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가

1.3 살생물제품에 대한 시험

개미에 대한 살생물제품의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	직접분사시험방법 NIER-BP-E5-104	일정 거리에 대상생물을 배치하고 살생물물질의 농도 혹은 분사량을 달리한 제품을 직접 분사하여 살충효과를 평가
실험실시험	접촉시험방법 NIER-BP-E5-101	특정 표면에 살생물제품을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가
실험실시험	독먹이시험방법 NIER-BP-E5-108	독먹이 제형의 살생물제품을 농도별로 제공하여 살충효과를 평가
모의사용시험	직접분사 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-200	제품 라벨의 유효 효능거리 및 사용방법을 따라 처리하였을 때 최종 살충효과를 평가
모의사용시험	접촉(잔류) 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-201	분무제 등의 제품을 특정 표면에 처리한 이후 시험곤충을 노출하여 효과를 평가, 처리표면의 효력유지정도를 측정
모의사용시험	독먹이 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-203	독먹이 형태 제품의 실제사용조건을 모사한 시험환경에서의 유인효과, 살충효과 및 약효유지시간을 평가

살충제 - 흰개미

2021

Insecticide - Termites

1.0 목적

살충제 중 흰개미 방제를 위한 살생물물질 및 살생물제품의 효과·효능을 평가하기 위한 시험대상생물종 및 시험방법의 종류를 제시하였다.

1.1 시험대상생물종

1.1.1 본 시험방법에서 대상으로 하는 흰개미로는 흰개미(*Reticulitermes speratus kyushuensis*), 집흰개미(*Coptotermes formosanus formosanus*), 칸몬흰개미(*Reticulitermes kanmonensis*) 등이 있다.

1.1.2 살생물제품의 라벨 상에 ‘흰개미’를 방제 대상으로 기재하고자 하는 경우에는 국내의 우점종인 흰개미에 대해 평가를 완료하여야 한다.

1.2 살생물물질에 대한 시험

흰개미에 대한 살생물물질의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	미량국소처리시험방법 NIER-BP-E5-100	소량의 살생물물질을 시린지를 이용하여 시험곤충에 직접 처리
실험실시험	흰개미의 토양처리시험방법 NIER-BP-E5-110	토양에 약제를 혼합하여 이동하는 흰개미에 대한 살충효과를 평가
실험실시험	접촉시험방법	특정 표면에 살생물물질을 처리한 이후

	NIER-BP-E5-101	시험곤충을 노출시켜 평가
--	----------------	---------------

1.3 살생물제품에 대한 시험

흰개미에 대한 살생물제품의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	접촉시험방법 NIER-BP-E5-101	특정 표면에 살생물제품을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가
실험실시험	흰개미의 토양처리 시험방법 NIER-BP-E5-110	토양에 약제를 혼합하여 이동하는 흰개미에 대한 살충효과를 평가
실험실시험	흰개미의 독먹이시험방법 NIER-BP-E5-109	독먹이 형태 제품의 실제사용조건을 모사한 시험환경에서 유인효과, 살충효과 및 약효유지시간을 평가
모의사용시험	접촉(잔류) 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-201	분무제 등의 제품을 특정 표면에 처리한 이후 시험곤충을 노출하여 효과를 평가, 처리표면의 효력유지정도를 측정
모의사용시험	공간분사 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-202	분무제 등의 제품을 특정 표면에 처리한 이후 시험곤충을 노출하여 효과를 평가, 처리표면의 효력유지정도를 측정
모의사용시험	독먹이 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-203	독먹이 제형의 살생물제품을 농도별로 제공하여 살충효과를 평가

살충제 - 포복흡혈곤충

2021

Insecticide - Crawling Blood-sucking Insects

1.0 목적

살충제 중 포복흡혈곤충 방제를 위한 살생물물질 및 살생물제품 살충제의 효과·효능을 평가하기 위한 시험대상생물종 및 시험방법의 종류를 제시하였다.

1.1 시험대상생물종

1.1.1 본 시험방법에서 대상으로 하는 포복흡혈곤충으로는 참진드기류(*Haemaphysalis* spp.), 털진드기류(*Leptotrombidium* spp.), 빈대(*Cimex lectularius*), 반날개빈대(*Cimex hemipterus*), 열대쥐벼룩(*Xenopsylla cheopis*), 개벼룩(*Ctenocephalides canis*), 고양이 벼룩(*Ctenocephalides felis*), 일본쥐벼룩(*Ceratophyllus anisus*) 등이 있다.

1.1.2 포복흡혈곤충의 경우 해당하는 표적생물이 다양하므로, 실제 시험에 사용된 종을 대상으로 라벨을 기재하도록 한다.

1.2 살생물물질에 대한 시험

포복흡혈곤충에 대한 살생물물질의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	미량국소처리시험방법 NIER-BP-E5-100	소량의 살생물물질을 시린지를 이용하여 시험곤충에 직접 처리
실험실시험	접촉시험방법 NIER-BP-E5-101	특정 표면에 살생물물질을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가

1.3 살생물제품에 대한 시험

포복흡혈곤충에 대한 살생물제품의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	직접분사시험방법 NIER-BP-E5-104	일정 거리에 대상생물을 배치하고 살생물물질의 농도 혹은 분사량을 달리한 제품을 직접 분사하여 살충효과를 평가
실험실시험	공간분사시험방법 NIER-BP-E5-105	소형 챔버에 제품을 처리하여 살충효과를 평가
실험실시험	접촉시험방법 NIER-BP-E5-101	특정 표면에 살생물제품을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가
모의사용시험	직접분사 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-200	제품 라벨의 유효 효능거리 및 사용방법을 따라 처리하였을 때 최종 살충효과를 평가
모의사용시험	공간분사 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-202	분사제, 에어로졸 등 일정 공간 전체를 처리하는 제품의 효과를 목적 공간 크기에서 평가
모의사용시험	접촉(잔류) 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-201	분무제등의 제품을 특정 표면에 처리한 이후 시험곤충을 노출하여 효과를 평가, 처리표면의 효력유지정도를 측정

살충제 - 벌

2021

Insecticide - Bees/Wasps

1.0 목적

살충제 중 벌 방제를 위한 살생물물질 및 살생물제품 살충제의 효과·효능을 평가하기 위한 시험대상생물종 및 시험방법의 종류를 제시하였다.

1.1 시험대상생물종

1.1.1 본 시험방법에서 대상으로 하는 벌로는 말벌류 (*Vespa* spp.), 땅벌류 (*Vespula* spp.), 뱀허물쌍살벌류 (*Parapolybia* spp.), 쌍살벌류 (*Polistes* spp.) 등이 있다.

1.1.2 살생물제품의 라벨 상에 ‘벌’을 방제 대상으로 기재하고자 하는 경우에는 생활 환경에서 접할 수 있는 말벌속, 땅벌속 및 쌍살벌속에 속하는 벌을 시험종으로 선정하며, 평가에 사용한 종을 라벨에 명시하도록 한다.

1.2 살생물물질에 대한 시험

벌에 대한 살생물물질의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	미량국소처리시험방법 NIER-BP-E5-100	소량의 살생물물질을 시린지를 이용하여 시험곤충에 직접 처리
실험실시험	접촉시험방법 NIER-BP-E5-101	특정 표면에 살생물물질을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가

1.3 살생물제품에 대한 시험

별에 대한 살생물제품의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	직접분사시험방법 NIER-BP-E5-104	일정 거리에 대상생물을 배치하고 살생물물질의 농도 혹은 분사량을 달리한 제품을 직접 분사하여 살충효과를 평가
실험실시험	공간분사시험방법 NIER-BP-E5-105	소형 챔버에 제품을 처리하여 살충효과를 평가
실험실시험	접촉시험방법 NIER-BP-E5-101	특정 표면에 살생물제품을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가
실험실시험	독먹이시험방법 NIER-BP-E5-108	독먹이 제형의 살생물제품을 농도별로 제공하여 살충효과를 평가
모의사용시험	직접분사 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-200	제품 라벨의 유효 효능거리 및 사용방법을 따라 처리하였을 때의 최종 살충 효과를 평가
모의사용시험	공간분사 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-202	분사제, 에어로졸 등 일정 공간 전체를 처리하는 제품의 효과를 목적 공간의 크기에서 평가
모의사용시험	접촉(잔류) 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-201	분무제 등의 제품을 특정 표면에 처리한 이후 시험곤충을 노출하여 효과를 평가, 처리표면의 효력유지정도를 측정
모의사용시험	독먹이 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-203	독먹이 형태 제품의 실제사용조건을 모사한 시험환경에서 유인효과, 살충효과 및 약효유지시간을 평가

살충제 - 저장물해충

2021

Insecticide - Stored Product Insect Pests

1.0 목적

살충제 중 저장물해충 방제를 위한 살생물물질 및 살생물제품의 효과·효능을 평가하기 위한 시험대상생물종 및 시험방법의 종류를 제시하였다.

1.1 시험대상생물종

1.1.1 본 시험방법에서 대상으로 하는 저장물해충으로는 보리나방(*Sitotroga cerealella*), 거릿쌀도둑거저리(*Tribolium castaneum*), 어리쌀도둑거저리(*Tribolium confusum*), 어리쌀바구미(*Sitophilus zeamais*), 쌀바구미(*Sitophilus oryzae*), 머리대장가는납작벌레(*Oryzaephilus surinamensis*), 화랑곡나방(*Plodia interpunctella*), 아메리카왕거저리(*Zophobas morio*), 권연벌레(*Lasioderma serricorne*), 인삼벌레(*Stegobium paniceum*), 팔바구미(*Callosobruchus chinensis*) 등이 있다.

1.1.2 살생물제품의 라벨 상에 ‘저장물해충’을 방제 대상으로 기재하고자 하는 경우에는 국내의 저장물해충 중 우점종인 어리쌀바구미와 화랑곡나방 2종에 대해 평가를 모두 완료하여야 한다.

1.2 살생물물질에 대한 시험

저장물해충에 대한 살생물물질의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	미량국소처리시험방법	소량의 살생물물질을 시린지를 이용하여

	NIER-BP-E5-100	시험곤충에 직접 처리
실험실시험	접촉시험방법 NIER-BP-E5-101	특정 표면에 살생물물질을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가
실험실시험	혼증시험방법 NIER-BP-E5-102	기체 상태의 살생물물질이 대상생물에 미치는 영향을 평가

1.3 살생물제품에 대한 시험

저장물해충에 대한 살생물제품의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	접촉시험방법 NIER-BP-E5-101	특정 표면에 살생물제품을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가
실험실시험	혼증시험방법 NIER-BP-E5-102	반제품 혹은 완제품 형태의 액상 시료에 대한 혼증 치사효과를 평가
모의사용시험	저장물해충의 혼증독성 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-205	저장물해충 방제 제품의 사용환경을 모사한 조건에서 치사효과 평가
모의사용시험	직접분사 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-200	제품 라벨의 유효 효능거리 및 사용방법을 따라 처리하였을 때의 최종 살충효과를 평가

살충제 - 섬유가해해충

2021

Insecticide - Textile-attacking Insect Pests

1.0 목적

살충제 중 섬유가해해충 방제를 위한 살생물물질 및 살생물제품의 효과·효능을 평가하기 위한 시험대상생물종 및 시험방법의 종류를 제시하였다.

1.1 시험대상생물종

1.1.1 본 시험방법에서 대상으로 하는 섬유가해해충으로는 곡식좀나방(*Nemapogon granella*), 거미줄옷좀나방(*Tineola bisselliella*), 옷좀나방(*Tinea translucens*), 좀류(*Ctenolepisma* spp.), 애수시렁이(*Attagenus unicolor japonicus*), 먼지다듬이류(*Liposcelis* spp.) 등을 포함한다.

1.1.2 살생물제품의 라벨 상에 '섬유가해해충'을 방제 대상으로 기재하고자 하는 경우에는 좀류에 대한 시험을 필수적으로 포함하고 옷좀나방, 애수시렁이, 먼지다듬이류 중 1종을 추가로 평가하도록 한다.

1.2 살생물물질에 대한 시험

섬유가해해충에 대한 살생물물질의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	미량국소처리시험방법 NIER-BP-E5-100	소량의 살생물물질을 시린지를 이용하여 시험곤충에 직접 처리
실험실시험	접촉시험방법	특정 표면에 살생물제품을 처리한 이후

	NIER-BP-E5-101	시험곤충을 노출시켜 평가
실험실시험	혼증시험방법 NIER-BP-E5-102	기체 상태의 살생물물질이 대상생물에 미치는 영향을 평가

1.3 살생물제품에 대한 시험

섬유가해해충에 대한 살생물제품의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	접촉시험방법 NIER-BP-E5-101	특정 표면에 살생물제품을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가
실험실시험	혼증시험방법 NIER-BP-E5-102	반제품 혹은 완제품 형태의 액상 시료에 대한 혼증 치사효과를 평가
모의사용시험	섬유가해해충의 혼증독성 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-206	섬유가해해충 방제 제품의 사용환경을 모사한 조건에서 치사효과 평가
모의사용시험	직접분사 모의사용시험방법 NIER-BP-E5-200	제품 라벨의 유효 효능거리 및 사용방법을 따라 처리하였을 때 최종 살충효과를 평가

살충제 - 실험실시험 - 미량국소처리시험방법

2021

Insecticide - Laboratory test - Topical Application Bioassay

1.0 개요

본 시험방법은 아세톤, 에탄올 등의 용매에 녹인 살생물물질을 대상생물의 표피에 소량으로 직접 처리하여 용량(농도)과 치사율의 관계를 평가하는 방법으로, 유효성분의 효과·효능을 가장 정확하게 판정할 수 있다.

2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

이 시험방법은 살생물물질의 치사효과 평가에 적용하며, 살생물제품에 대한 효과·효능 평가에는 적용하지 않는다.

3.0 대상생물

3.1 이 시험방법은 모기, 바퀴벌레, 파리, 화랑곡나방, 애수시렁이 등 일정 크기 이상의 체적을 갖고 있어 표피에 직접적인 시험 용액의 처리가 가능한 생물에 대해 평가가 가능하다.

3.2 대상생물의 체적이 작은 경우 처리 용액이 흘러내릴 수 있는데, 해당 경우 현상이 나타나지 않도록 처리량을 최소화하거나 다른 시험방법을 사용하여 살생물물질의 효과를 평가하도록 한다.

4.0 시험 절차

4.1 시험기구

4.1.1 시험용액의 처리를 위해 사용하는 미량적하장치(micro-applicator)는 바늘이 달린 일정 규격의 마이크로시린지 및 정량 주입기로 구성되어 있다.

4.1.2 시험에 사용가능한 기기로는 수동 디스펜서가 부착된 마이크로시린지를 사용하거나, 자동으로 일정량이 주입되는 장치를 사용할 수 있다.

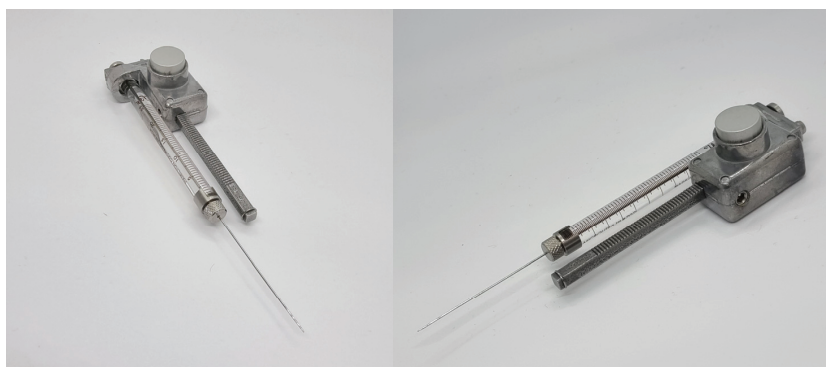


그림 1. 미량국소처리시험방법에 사용되는 미량적하장치 예시

4.2 시험물질

4.2.1 살생물물질은 에탄올, 아세톤 등과 같이 휘발성이 높은 용매에 녹여 사용하거나 액상의 경우 그대로 사용할 수 있다.

4.2.2 용매를 사용할 경우 용매에 의한 치사효과가 발생하지 않음을 확인하여야 한다.

4.3 시험방법

4.3.1 시험물질을 아세톤이나 에탄올 등 단독으로 처리 시 치사효과가 나타나지 않는 휘발성이 강한 용매에 녹여, 2배 내외의 비율을 가진 4~8단계의 시험용액을 조제한다.

4.3.2 대상생물 10~15 개체를 디에틸에테르, 이산화탄소 또는 저온으로 마취하여 준비한 뒤, 시료 0.2~5 μL 를 장치를 이용하여 가슴 또는 복부의 배면(sternum) 혹은 등 쪽(notum)에 처리한다.

[주 1] 마취 과정에서 필요 이상의 디에틸에테르나 이산화탄소 또는 저온을 공급하는 경우 대상 물질의 효과에 영향을 줄 수 있으므로 마취 시간은 최소한으로 유지하도록 한다.

[주 2] 페트리디쉬와 같은 플라스틱 재질의 용기를 사용하는 경우, 평가 물질 혹은 용매의 종류에 따라 플라스틱이 녹을 수 있으며, 벽면에 대상생물이 붙어 사멸하는 경우가 있으므로 해당 현상이 발생하지 않도록 주의한다.

4.3.3 음성대조군은 용매만을 처리한다.

4.3.4 시료가 처리된 대상생물은 청결한 용기로 이동하며, 필요시 적당량의 수분과 먹이를 함께 공급하도록 한다.

4.3.5 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 일반적으로 치사효과는 처리 후 24시간 경과 시점에서 결과를 기록하도록 하나, 대상생물 및 평가물질의 특성에 따라 48시간 혹은 일정 시간에서의 치사효과를 판정할 수 있다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 죽은 개체수를 기록하여 치사율을 구하고 Abbott 식을 이용해 보정 치사율(%)을 계산한다.

$$\text{보정 치사율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 치사율} - \text{대조군의 치사율})}{(100 - \text{대조군의 치사율})} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.1.3 대조군의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해 활력이 떨어지거나, 시험방법 혹은 보관방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.1.4 살생물물질의 반수치사량 계산을 위해서는 분산된 치사율 구간에서 4개 이상의 약량을 포함하여 probit 분석을 실시해야 한다(치사율 구간 예시; 5~30% 구간 내 약량 1개, 30~50% 구간 내 1개, 50~70% 구간 내 1개 및 70~95% 구간 내 1개 등).

5.2 결과의 표시

5.2.1 살생물물질의 시험에 대해서는 약량별 치사율의 probit 분석을 통해 반수치사량 (LD_{50} 값), LD_{90} 값 및 기울기 값 등을 계산하여 약량별 실제 시험결과와 함께 제출한다.

5.2.2 반수치사량은 대상생물의 단위중량별 처리량으로 표현한다(예: $\mu\text{g}/\text{mg}$ body weight, mg/g body weight 등).

살충제 - 실험실시험 - 접촉시험방법

2021

Insecticide - Laboratory test - Contact Bioassay

1.0 개요

이 시험방법은 살생물제를 처리한 여과지와 대상생물을 직접 접촉시켜 효력을 확인하는 것이다. 물질을 처리하는 면의 종류, 성상, 처리용량, 처리 후 대상을 접촉하기까지의 시간, 밀봉 여부 등 시험의 결과에 영향을 주는 다양한 요인들이 있으므로 조건을 일정하게 하여 진행할 필요가 있다.

2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

본 시험방법은 주로 살생물물질을 대상으로 하며, 유제(油劑), 유제(乳劑), 분제, 미탁제, 에어로졸제 등과 같은 살생물제품의 반제품 혹은 완제품 형태의 액상 시료에 대한 실험실시험에 적용이 가능하다.

3.0 대상생물

모기, 파리 등의 비행곤충 및 바퀴벌레, 개미 등의 포복곤충을 대상으로 한다.

4.0 시험절차**4.1 시험물질**

4.1.1 살생물물질은 에탄올, 아세톤 등과 같이 휘발성이 높은 용매에 녹여 사용하거나 액상의 경우 그대로 사용할 수 있다.

4.1.2 용매를 사용할 경우 용매에 의한 치사효과가 발생하지 않음을 확인하여야 한다.

4.1.3 반제품 혹은 완제품 형태의 살생물제품에 대한 시험의 경우에는 용매를 사용하지 않고 그대로 처리한다.

4.1.4 분무제 등의 액상 제형은 제품의 원액을 그대로 사용하며, 에어로졸 제품은 추진제 가스를 제거한 이후 원액을 이용하여 평가할 수 있다.

4.1.5 만일 추진제의 제거가 용이하지 않은 경우 여지(filter paper)에 적량의 제품을 분사하고 분사 전후의 무게를 측정하고 처리량을 확인하여 평가한다.

4.1.6 담지체나 멤브레인 등에 함침된 제형은 제품을 개봉하고 내용물로 평가하거나, 담지 작업 이전의 반제품으로 시험을 진행한다.

4.2 시험방법

4.2.1 시험물질을 유리판, 망 등의 표면에 균일하게 처리한다.

[주 1] 액제는 표면이 흡수성 재질일 경우 $5 \mu\text{L}/\text{cm}^2$, 비흡수성 재질일 경우 $2.5 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ 로 처리한다. 분제는 $0.2 \sim 1.6 \text{ mg}/\text{cm}^2$ 로 처리한다.

4.2.2 음성대조군은 용매만을 처리하여 평가하며, 용매를 사용하지 않는 살생물제품에 대해서는 무처리군을 대조군으로 사용한다.

4.2.3 시험물질을 처리한 표면을 한 시간 이상 충분히 건조시킨 후 10~20 개체의 대상생물을 접촉시킨다.

[주 2] 모기의 경우 WHO test tube나 WHO cone을 사용할 수 있다(표면 $25 \times 25 \text{ cm}$ 당 WHO cone 4개 배치).

[주 3] 바퀴벌레의 경우 깊이가 있는 페트리디쉬 등과 같은 용기에 준비한 뒤, 시험물질을 처리한 표면으로 용기 상단을 덮어 뒤집는 방법 등으로 접촉시킨다. 용기 내벽에는 기어오름을 방지하기 위한 바셀린 등을 도포한다.

4.2.4 일정 시간 경과 후 대상생물을 깨끗한 용기에 옮긴 뒤, 먹이와 수분을 공급하여 녹다운 및 치사율을 관찰한다.

4.2.5 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

[주 4] WHO cone을 이용한 모기 평가의 경우 최소 50개체 이상을 사용할 때까지 반복한다.

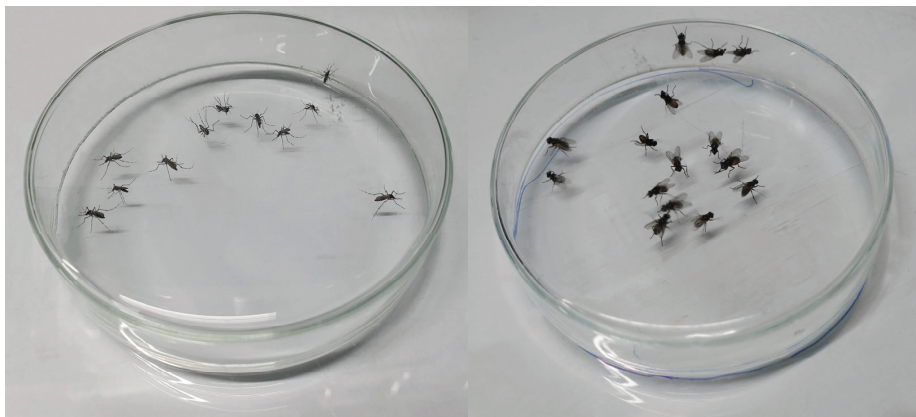


그림 2. 접촉시험방법 예시

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 일반적으로 치사효과는 처리 후 24시간 경과 시점에서 결과를 기록하도록 하나, 대상생물 및 평가물질의 특성에 따라 48시간 혹은 72시간 후에 치사효과를 판정할 수 있다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 죽은 개체수를 기록하여 치사율을 구하고 Abbott 식을 이용해 보정 치사율(%)을 계산한다.

$$\text{보정 치사율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 치사율} - \text{대조군의 치사율})}{(100 - \text{대조군의 치사율})} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.1.3 대조군의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해 활력이 떨어지거나, 시험방법(용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.1.4 살생물물질의 반수치사량 계산을 위해서는 분산된 치사율 구간에서 4개 이상의 약량을 포함하여 probit 분석을 실시해야 한다(치사율 구간 예시; 5~30% 구간 내 약량 1개, 30~50% 구간 내 1개, 50~70% 구간 내 1개 및 70~95% 구간 내 1개 등).

5.2 결과의 표시

5.2.1 살생물물질의 실험실시험을 진행한 경우에는 대상 생물에 대한 반수치사량(LD₅₀) 혹은 반수치사농도(LC₅₀) 값을 판정하여 제출하며, 시험에 사용된 시험곤충의 개체수, probit 분석에 따른 기울기값, 95% 유효농도(confidence limit) 등 통계자료를 약량별 실제 시험결과와 함께 제출한다.

5.2.2 살생물제품의 실험실시험을 진행하고자 하는 경우 기준량, 배량 및 반량 총 3가지 조건에서 시험을 진행한 뒤 1시간 이후의 녹다운 결과 및 24시간(혹은 48시간 등) 이후의 치사율 결과를 제출하도록 한다.

[주 6] 평가제품의 농도를 조절하기 어려운 경우 제품 라벨에 표시된 권장 사용량을 기준으로 기준량, 배량 및 반량을 처리할 수 있다.

5.2.3 살생물제품의 실험실시험에 있어 농도 및 처리량을 다르게 처리하기 어려운 경우 제품을 기준량으로 처리하되, 시간에 따른 녹다운 속도를 측정하여 probit 분석을 실시하여 반수녹다운시간(KT₅₀) 값을 판정하도록 하며, KT₅₀ 값 및 24시간 이후의 치사율을 기록하여 원자료와 함께 제출한다.

5.2.4 살생물물질의 반수치사량 및 반수치사농도는 단위면적 혹은 단위 부피당 처리량으로 표현한다(예: µg/cm², mL/L 등).

살충제 - 실험실시험 - 훈증시험방법

2021

Insecticide - Laboratory test - Fumigation Bioassay

1.0 개요

훈증시험은 대상생물과 살생물제의 직접적인 접촉을 막은 상태에서, 대기 중으로 휘발된 기체 형태의 유효성분이 대상생물에 주는 영향을 판단하는 방법이다. 이 시험방법을 적용할 때는 살생물제를 처리한 표면과 대상생물 사이에 충분한 거리를 확보하여 직접적인 접촉이 일어나지 않도록 주의가 필요하다.

2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

일반적으로 살생물물질의 훈증을 통한 살충효력을 평가하는 목적으로 사용하나, 휘발 및 증산 형태로 처리되는 제품의 실험실시험에도 사용할 수 있다

3.0 대상생물

어리쌀바구미(*Sitophilus zeamais*)를 비롯한 저장물해충 및 먼지다듬이류(*Liposcelis* spp.) 및 좀류(*Ctenolepisma* sp.) 등의 섬유가해해충과 같이 밀폐된 공간(곡물저장용기, 옷장, 서랍장, 현관 및 소규모 창고 등)에 서식 및 발생하는 해충을 대상으로 한다.

4.0 시험절차**4.1 시험물질**

4.1.1 살생물물질은 에탄올, 아세톤 등과 같이 휘발성이 높은 용매에 녹여 사용하거나 액상의 경우 그대로 사용할 수 있다.

4.1.2 용매를 사용할 경우 용매에 의한 치사효과가 발생하지 않음을 확인하여야 한다.

4.1.3 반제품 혹은 완제품 형태의 살생물제품에 대한 시험의 경우에는 용매를 사용하지 않고 그대로 처리한다.

4.1.4 분무제 등의 액상 제형은 제품의 원액을 그대로 사용하며, 에어로졸 제품은 추진제 가스를 제거한 이후 원액을 이용하여 평가할 수 있다.

4.1.5 담지체나 멤브레인 등에 함침된 제형은 제품을 개봉하여 내용물로 평가하거나, 담지 작업 이전의 반제품으로 시험을 진행한다.

4.2 시험방법

4.2.1 두 군데 이상의 위치에 망을 부착하여 공기의 충분한 순환이 가능하도록 설계된 소형 용기에 10~20개체의 대상생물을 투입하고, 필요한 경우 먹이를 함께 제공한다.

[주 1] 플라스틱 용기를 사용하는 경우 약제간의 간섭을 피하기 위해 시험에 사용한 용기를 재사용하지 않도록 한다. 유리용기 등을 사용하는 경우 충분히 세척하고 에탄올, 아세톤 등의 용매를 사용하여 2차 세척함으로써 유효성분이 남아있지 않도록 한다.

4.2.2 시험물질을 여과지에 처리한다.

4.2.3 음성대조군은 용매만을 처리하여 평가하며, 용매를 사용하지 않는 살생물제품에 대해서는 무처리군을 대조군으로 사용한다.

4.2.4 용매가 충분히 휘발된 이후 여과지를 대상생물이 포함된 소형용기와 함께 휘발 시험용기에 투입한다.

4.2.5 소형용기와 시험물질이 처리된 여과지가 직접 접촉하지 않도록 주의하여 배치하고, 시험물질이 유출되지 않도록 용기를 밀폐한다.

[주 2] 시험물질이 처리된 여과지가 벽면에 부착되는 경우 시험물질의 충분한 휘발에 방해가 될 수 있으므로, 실 등을 이용하여 용기 내에 매달아 놓는 등의 방식으로 용기와

의 접촉을 최소화하도록 한다.

[주 3] 시험용기 내 습도가 낮은 경우 여과지 및 대상생물이 포함된 용기와 접촉하지 않는 위치에 물을 적신 거즈 등을 배치하여 습도를 높일 수 있다.

4.2.6 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

[주 4] 동일한 시험용기 또는 공간에서 반복시험 진행 시 시험물질이 남아있을 경우 등을 대비해 독성반응을 관찰할 필요가 있다. 대상생물을 투입한 후 일정 시간동안 관찰했을 때 독성반응이 나타난다면, 시험을 중단하고 시험용기 또는 공간을 다시 세척하거나 교체해야 한다.

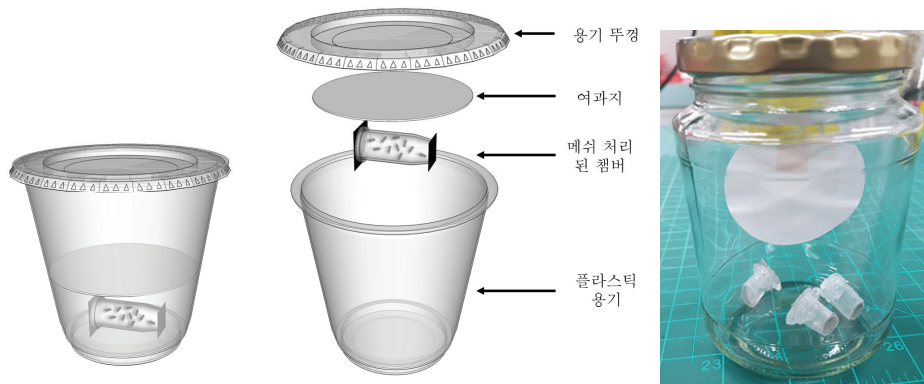


그림 3. 훈증시험방법 예시

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 일반적으로 치사효과는 처리 후 24시간 경과 시점에서 결과를 기록하도록 하나, 대상생물 및 평가물질의 특성에 따라 48시간 혹은 72시간의 치사효과를 판정할 수 있다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 죽은 개체수를 기록하여 치사율을 구

하고 Abbott 식을 이용해 보정 치사율(%)을 계산한다.

$$\text{보정 치사율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 치사율} - \text{대조군의 치사율})}{(100 - \text{대조군의 치사율})} \times 100 \quad (\text{식 } 1)$$

5.1.3 대조군의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해 활력이 떨어지거나, 시험방법(용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.1.4 대상 물질의 반수치사농도 계산을 위해서는 분산된 치사율 구간에서 4개 이상의 농도를 포함하여 probit 분석을 실시해야 한다(치사율 구간 예시; 5~30% 구간 내 농도 1개, 30~50% 구간 내 1개, 50~70% 구간 내 1개 및 70~95% 구간 내 1개 등).

5.1.5 살생물제품의 실험실시험을 위한 혼증시험방법을 실시하는 경우, 처리 용량 혹은 혼증 시간에 따른 치사효과의 변화 정도를 측정하여 보고한다.

5.2 결과의 표시

5.2.1 살생물물질의 시험에 대해서는 농도별 치사율의 probit 분석을 통해 반수치사농도(LC₅₀)값, LC₉₀값 및 기울기 값을 계산하여 농도별 실제 시험결과와 함께 제출한다.

5.2.2 반수치사농도는 단위부피당 농도로 표현한다(예: µg/mL air, mg/L air 등).

5.2.3 제품에 대한 실험실시험에 있어서는, 처리 농도에 따른 치사효과를 판정하여 이를 반수치사농도로 표현할 수 있는데, 경우에 따라서는 단일 처리농도에 따른 녹다운 속도를 조사한 결과(KT₅₀ 및 KT₉₀값) 및 24시간 치사율(또는 48시간 혹은 72시간 치사율)을 조사하도록 한다.

살충제 - 실험실시험 - 배지혼합시험방법

2021

Insecticide - Laboratory test - Media Mixing Bioassay

1.0 개요

이 시험방법은 유충을 사육하는 사료(배지)에 다양한 농도의 평가대상 살생물물질 및 살생물제품을 혼합하여 급여 한 뒤 치사효과를 확인하는 것으로, 식독성 및 접촉독성이 더해져 종합적으로 평가된다.

2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

이 시험방법은 살생물물질 또는 유제(油劑), 유제(乳劑), 수화제, 분제 등과 같은 살생물제품의 반제품 혹은 완제품을 시료로 하는 실험실시험에 적용이 가능하다.

3.0 대상생물

이 시험방법은 파리 유충에 대한 평가에 활용이 가능하다.

4.0 시험절차**4.1 시험물질**

4.1.1 살생물물질은 에탄올, 아세톤 등과 같이 휘발성이 높은 용매에 녹여 사용하거나 액상의 경우 그대로 사용할 수 있다.

4.1.2 용매를 사용할 경우 용매에 의한 치사효과가 발생하지 않음을 확인하여야 한다.

4.1.3 반제품 혹은 완제품 형태의 살생물제품에 대한 시험의 경우에는 용매를 사용하지 않고 그대로 처리하거나, 유제(乳劑) 및 수화제는 물에, 유제(油劑)는 케로신 등에, 분제는 활석 등의 담체로 희석하여 처리할 수 있다.

4.2 시험방법

4.2.1 파리 유충 사육에 이용되는 배지 50 g에 시료 1 mL 또는 1 g을 혼합한 뒤 깊이가 깊은 페트리디쉬 등에 넣어 준비한다.

4.2.2 시료를 처리하지 않은 무처리군 배지를 음성대조군으로 한다.

4.2.3 2~4령 경의 유충 50개체를 살생물물질 혹은 제품이 혼합된 배지를 넣은 페트리디쉬에 투입하고 투명천 등과 같은 통기성 덮개로 닫아 고무줄 등으로 고정한다.

[주 1] 곤충성장조절제(Insect Growth Regulator, IGR) 시험에 사용하는 유충의 일령은 최종제품의 작용성과 목적에 따라 선택한다.

4.2.4 처리군 및 대조군을 사육조건과 동일한 조건 하에서 보관한다.

4.2.5 일주일 후에 용화(蛹化)한 개체를 꺼내 청결한 용기로 옮기고, 우화하는 개체수를 관찰한다. 시험은 처리 후 최대 14일까지 관찰한다.

4.2.6 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 우화 개체수를 기록하여 우화저해율을 구하고 Abbott 식을 이용해 보정 우화저해율(%)을 계산한다.

$$\text{보정 우화저해율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 우화저해율} - \text{대조군의 우화저해율})}{(100 - \text{대조군의 우화저해율})} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.1.2 대조군의 우화저해율이 20%를 초과하는 경우 시험방법 혹은 보관방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.1.3 살생물물질의 반수저해농도 계산을 위해서는 분산된 저해율 구간에서 4개 이상의 농도를 포함하여 probit 분석을 실시해야 한다(저해율 구간 예시; 5~30% 구간 내 농도 1개, 30~50% 구간 내 1개, 50~70% 구간 내 1개 및 70~95% 구간 내 1개 등).

5.2 결과의 표시

5.2.1 살생물물질의 시험에 대해서는 농도별 저해율의 probit 분석을 통해 반수저해농도(IC₅₀)값, IC₉₀값 및 기울기 값을 계산하여 농도별 실제 시험결과와 함께 제출한다.

5.2.2 반수저해농도는 배지 무게 당 처리량으로 표현한다(예: g/g, mL/g 등).

5.2.3 살생물제품의 실험실시험을 진행하고자 하는 경우 기준량, 배량 및 반량 총 3가지 조건에서 시험을 진행한 뒤 1시간 이후의 녹다운 결과 및 24시간(혹은 48시간 등) 이후의 치사율 결과를 제출하도록 한다.

[주 2] 평가제품의 농도를 조절하기 어려운 경우 제품 라벨에 표시된 권장 사용량을 기준으로 기준량, 배량 및 반량을 처리할 수 있다.

살충제 - 실험실시험 -
직접분사시험방법

2021

Insecticide - Laboratory test -
Direct Spray Bioassay

1.0 개요

본 시험방법은 살생물제품을 대상생물에 직접 분사하여 처리하였을 때의 효과를 평가하는 방법이다.

2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

액상분무제, 에어로졸과 같이 압축된 공기 혹은 추진제에 의해 유효성분이 분무되는 제형의 살생물제품을 대상으로 한다.

3.0 대상생물

모기, 파리, 나방 등의 비행곤충 및 바퀴벌레, 개미 등의 포복곤충을 대상으로 한다.

4.0 시험절차

4.1 시험물질

본 시험에서는 살생물제품을 별도의 조작 없이 그대로 사용한다.

4.2 시험방법

4.2.1 위아래에 메쉬를 덧댄 플라스틱, 유리, 스테인리스 재질의 용기 혹은 전체가 메

위로 된 원기둥 형태의 용기를 준비한다.

[주 1] 용기의 크기는 대상생물의 크기, 행동습성 등에 따라 다양하게 선정할 수 있으나, 행동에 제약을 주지 않아야 한다.

[주 2] 용기의 높이는 5~10 cm 정도가 적절하고, 용기의 지름은 평가 제품의 분사 폭에 따라 결정하며, 최소 7 cm 이상으로 한다.

[주 3] 메쉬의 크기는 대상생물의 탈출을 막을 수 있는 가장 큰 크기로 선정하며, 평가하고자 하는 제품의 흐름을 방해하지 않아야 한다. 또한, 분사된 용액이 용기에 남아있지 않고 통과할 수 있어야 한다.

[주 4] 플라스틱 용기를 사용하는 경우 약제간의 간섭을 피하기 위해 시험에 사용한 용기를 재사용하지 않도록 한다. 유리용기 등을 사용하는 경우 충분히 세척하고 에탄올, 아세톤 등의 용매를 사용하여 2차 세척함으로써 유효성분이 남아있지 않도록 한다.

4.2.2 시험용기 내에 10~20개체의 대상생물을 투입하여 준비한다.

4.2.3 후드가 장착된 시험공간에서 살생물제품을 분사하며, 분사거리는 제품의 라벨과 관계없이 40~50 cm 거리에서 분사한다.

4.2.4 음성대조군은 무처리군으로 한다.

4.2.5 분사 후 15분이 경과한 시점에서 시험을 종료하고 대상생물을 깨끗한 용기로 옮긴 뒤, 필요 시 먹이와 수분을 공급하여 최종 치사율을 관찰한다.

4.2.6 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

[주 5] 동일한 시험용기 또는 공간에서 반복시험 진행 시 시험물질이 남아있을 경우 등을 대비해 독성반응을 관찰할 필요가 있다. 대상생물을 투입한 후 일정 시간 동안 관찰했을 때 독성반응이 나타난다면, 시험을 중단하고 시험용기 또는 공간을 다시 세척하거나 교체해야 한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 처리 후 24시간 경과 시점에서의 치사효과를 기준으로 한다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 죽은 개체수를 기록하여 치사율을 구하고 Abbott 식을 이용해 보정 치사율(%)을 계산한다.

$$\text{보정 치사율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 치사율} - \text{대조군의 치사율})}{(100 - \text{대조군의 치사율})} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.1.3 대조군의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해 활력이 떨어지거나, 시험방법(용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.2 결과의 표시

5.2.1 살생물제품은 기준량, 배량 및 반량 총 3가지 조건에서 시험을 진행한 뒤 15분 경과 시점의 녹다운 결과 및 24시간 이후의 치사율 결과를 제출하도록 한다.

5.2.2 평가제품의 농도를 조절하기 어려운 경우 제품 라벨에 표시된 권장 사용량을 기준으로 기준량, 배량 및 반량을 처리할 수 있다.

5.2.3 살생물제품의 농도 및 처리량을 다르게 처리하기 어려운 경우 제품을 기준량으로 처리하되, 시간에 따른 녹다운 속도를 측정하여 probit 분석을 실시하여 KT_{50} 값을 판정하도록 하며, KT_{50} 값 및 24시간 이후의 치사율을 기록하여 원자료와 함께 제출한다.

살충제 - 실험실시험 -
공간분사시험방법

2021

Insecticide - Laboratory test -
Space Spray Bioassay

1.0 개요

본 시험방법은 일정한 시험공간에 살생물제품을 처리한 뒤 대상생물을 투입하였을 때, 또는 시험공간에 대상생물을 먼저 투입한 후 살생물제품을 처리하였을 때의 효과를 평가하는 방법이다.

2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

액상분무제, 에어로졸과 같이 압축된 공기 혹은 추진제에 의해 유효성분이 분무되는 제형의 살생물제품을 대상으로 한다.

3.0 대상생물

파리, 모기 등의 비행곤충 및 바퀴벌레, 진드기 등의 포복곤충을 대상으로 한다.

4.0 시험절차

4.1 시험기구

4.1.1 시험에 사용되는 장치는 부피 0.5 m³ (63 × 63 × 125 cm, W×D×H) 정도의 세척이 용이한 유리 또는 투명 플라스틱 재질의 상자를 사용한다.

4.1.2 장치에는 살생물제품을 분사하기 위한 분사구 및 대상생물 투입구가 있다.

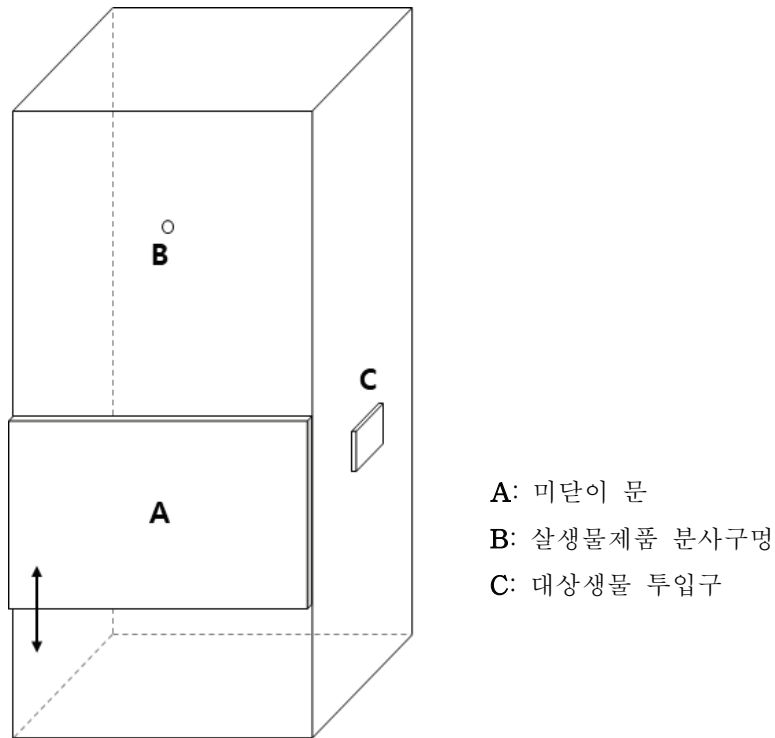


그림 4. 공간분사시험방법 기구 모식도

4.1.3 시험에 따라 한 변이 60~180 cm 인(예: $60 \times 60 \times 60 \text{ cm} = 0.22 \text{ m}^3$) 정육면체의 상자 장치도 사용할 수도 있다.

4.2 시험물질

본 시험에서는 살생물제품을 별도의 조작 없이 그대로 사용한다.

4.3 시험방법

4.3.1 분사기기를 사용하여 시험공간에 살생물제품을 일정시간 또는 일정량 분사한 뒤 30초 후에 대상생물 투입구로 10~20개체의 대상생물을 투입한다.

[주 1] 대상생물 10~20개체를 시험공간에 먼저 투입한 뒤 분사기기를 사용하여 시료

를 처리하는 방식으로 시험을 진행할 수도 있으며, 제형에 따라 적절하게 처리량 또는 처리시간을 변경할 수 있다.

4.3.2 음성대조군은 무처리군으로 한다.

4.3.3 대상생물이 살생물제품에 노출된 후 일정 시간간격으로 녹다운을 관찰한다.

[주 2] 집먼지진드기 등과 같이 크기가 작은 생물종을 대상으로 시험을 진행하여 개체별 녹다운을 판별하는 것이 어려운 경우 최종 치사율만을 관찰할 수 있다.

4.3.4 대상생물이 살생물제품에 노출된 후 일정시간이 경과한 시점에서 대상생물을 깨끗한 용기로 옮겨주고, 필요 시 사료와 수분을 공급하여 최종 치사율을 관찰한다.

4.3.5 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

[주 3] 동일한 시험용기 또는 공간에서 반복시험 진행 시 시험물질이 남아있을 경우 등을 대비해 독성반응을 관찰할 필요가 있다. 대상생물을 투입한 후 일정 시간 동안 관찰했을 때 독성반응이 나타난다면, 시험을 중단하고 시험용기 또는 공간을 다시 세척하거나 교체해야 한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 처리 후 24시간 경과 시점에서의 치사효과를 기준으로 한다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 죽은 개체수를 기록하여 치사율을 구하고 Abbott 식을 이용해 보정 치사율(%)을 계산한다.

$$\text{보정 치사율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 치사율} - \text{대조군의 치사율})}{(100 - \text{대조군의 치사율})} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.1.3 대조군의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해

활력이 떨어지거나, 시험방법(용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.2 결과의 표시

5.2.1 살생물제품은 기준량, 배량 및 반량 총 3가지 조건에서 시험을 진행한 뒤 15분 경과 시점의 녹다운 결과 및 24시간 이후의 치사율 결과를 제출하도록 한다.

5.2.2 평가제품의 농도를 조절하기 어려운 경우 제품 라벨에 표시된 권장 사용량을 기준으로 기준량, 배량 및 반량을 처리할 수 있다.

5.2.3 살생물제품의 농도 및 처리량을 다르게 처리하기 어려운 경우 제품을 기준량으로 처리하되, 시간에 따른 녹다운 속도를 측정하여 probit 분석을 실시하여 KT_{50} 값을 판정하도록 하며, KT_{50} 값 및 24시간 이후의 치사율을 기록하여 원자료와 함께 제출한다.

살충제 - 실험실시험 - 수중처리시험방법

2021

Insecticide - Laboratory test - Immersion Bioassay

1.0 개요

본 시험방법은 발달단계 중 수서 생활을 포함하는 대상생물에 대해서 살생물제를 수중 처리한 후 치사효과를 평가하는 방법이다.

2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

이 시험방법은 살생물물질 또는 유제(乳劑), 수화제, 현탁제 등과 같은 살생물제품의 반제품 혹은 완제품을 시료로 하는 실험실시험에 적용이 가능하다.

3.0 대상생물

이 시험방법은 모기 유충에 대한 평가에 활용이 가능하다.

4.0 시험절차**4.1 시험물질**

4.1.1 살생물물질은 에탄올, 아세톤 등과 같은 용매에 녹여 사용하거나 액상의 경우 그대로 사용할 수 있다.

4.1.2 용매를 사용할 경우 용매에 의한 치사효과가 발생하지 않음을 확인하여야 한다.

4.1.3 반제품 혹은 완제품 형태의 살생물제품에 대한 시험의 경우에는 용매를 사용하

지 않고 그대로 처리한다.

4.2 시험방법

4.2.1 대상생물 20~50개체를 199 mL의 물을 넣은 용기에 투입하고 에탄올에 희석한 살생물물질 1 mL를 첨가하여 교반한다.

[주 1] 사용하는 물은 증류수, 순도가 높은 물, 받아놓고 하루 이상 경과한 수돗물 등을 이용하며, 염소가 포함된 수돗물은 사용하지 않는다.

[주 2] 모기의 경우 3~4령 경의 유충을 평가에 사용한다.

[주 3] 곤충성장조절제(Insect Growth Regulator, IGR)를 이용한 시험에서는 발육 단계를 정확히(예를 들어 키틴합성 저해제의 경우 2령, 유약호르몬의 경우 번데기 직전의 단계) 하도록 한다.

4.2.2 음성대조군은 용매만을 처리한 것 또는 무처리군으로 한다.

4.2.3 일반적으로 24시간 또는 필요한 경우 48시간 후 치사효과를, IGR의 경우 1~2주 뒤 우화저해율을 확인한다.

[주 4] 치사효과 확인 시 용화한 개체는 전체 수에서 제외하며, IGR은 모든 대상생물이 우화할 때까지 사육하여 우화저해율을 확인한다.

4.2.4 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 일반적으로 치사효과는 처리 후 24시간 또는 48시간 경과 시점의 결과를 기록하나, 곤충성장조절제의 경우 1~2주 뒤 우화저해율을 기준으로 한다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 죽은 개체수를 기록하여 치사율을 구하고 Abbott 식을 이용해 보정 치사율(%)을 계산한다.

$$\text{보정 치사율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 치사율} - \text{대조군의 치사율})}{(100 - \text{대조군의 치사율})} \times 100 \quad (\text{식 } 1)$$

5.1.3 대조군의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해 활력이 떨어지거나, 시험방법 혹은 보관방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.1.4 살생물제의 반수치사농도 계산을 위해서는 분산된 치사율 구간에서 4개 이상의 농도를 포함하여 probit 분석을 실시해야 한다(치사율 구간 예시; 5~30% 구간 내 농도 1개, 30~50% 구간 내 1개, 50~70% 구간 내 1개 및 70~95% 구간 내 1개 등).

5.2 결과의 표시

5.2.1 살생물물질의 시험에 대해서는 농도별 치사율에 대한 probit 분석을 통해 반수치사농도(LC₅₀)값, LC₉₀값을 또는 곤충성장조절제의 경우 반수저해농도(IC₅₀)값, IC₉₀값 및 기율기 값 등을 계산하여 농도별 실제 시험결과와 함께 제출한다.

5.2.2 살생물제품의 시험에 있어서는 제품 내 살생물물질의 함량(기준량), 함량의 2배 농도(배량) 및 1/2배 농도(반량)를 처리한 경우의 시험결과를 제출한다.

5.2.3 반수치사농도 및 반수저해농도는 부피 당 처리량으로 표현한다(예: g/mL, mL/mL 등).

살충제 - 실험실시험 - 증산(휘산)시험방법

2021

Insecticide - Laboratory test - Vapour Activity Bioassay

1.0 개요

이 시험방법은 일정 크기의 공간에 살생물제품을 휘산, 가열 등의 방식으로 처리했을 때 유효성분이 대상생물에 주는 영향을 평가하는 방법이다.

2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

모기향, 전자모기향 등과 같은 가열증산 및 휘산되는 살생물제품의 살충효력을 평가하는 목적으로 사용한다.

3.0 대상생물

모기 등의 비행곤충을 대상으로 한다.

4.0 시험절차**4.1 시험기구**

4.1.1 시험에 사용되는 장치는 180 × 180 × 180 cm (W×D×H) 크기의 세척이 용이한 유리 또는 투명 플라스틱 재질의 상자(피트-그래디 챔버)를 사용한다.

4.1.2 전자모기향 등 전기를 사용하는 제품을 평가하기 위해서는 해당 챔버의 내부에 별도의 전원공급장치를 설치하여 밀폐된 환경에서 전기가 공급되도록 한다.

4.1.3 챔버에는 내부의 살충성분을 제거하기 위한 별도의 환기장치가 설치되도록 한다.

4.1.4 챔버의 벽면에는 결과를 확인하기 위한 관찰창을 설치한다.

4.1.5 정확한 평가를 위해 시험 중에는 챔버 내부가 밀폐될 수 있어야 한다.

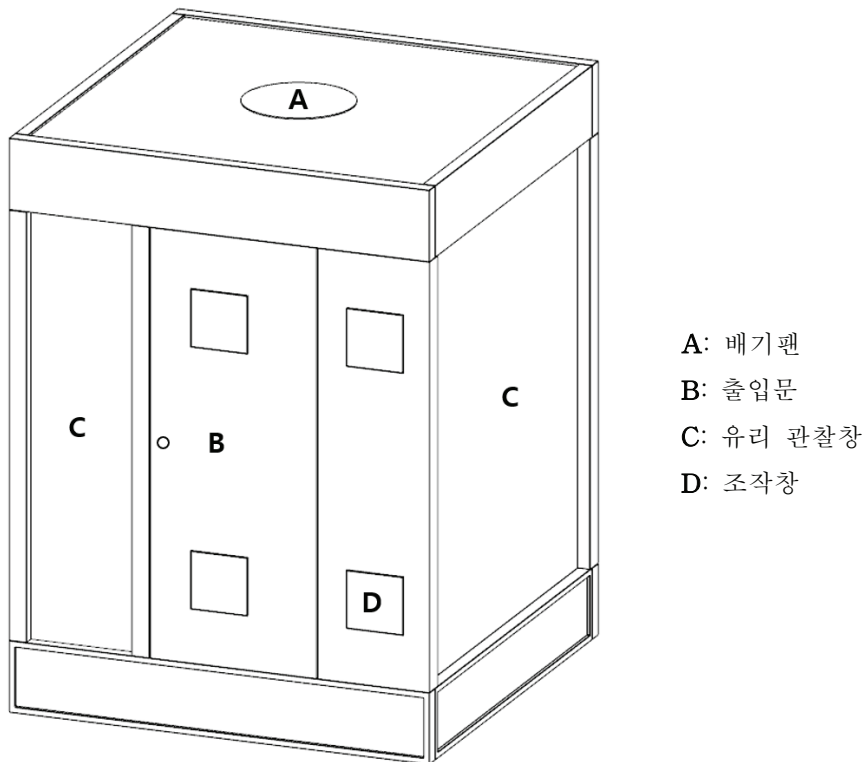


그림 5. 증산시험방법에 사용되는 피트-그래디 챔버 모식도

4.2 시험물질

4.2.1 반제품 혹은 완제품 형태의 살생물제품에 대한 시험의 경우에는 용매를 사용하지 않고 그대로 사용한다.

4.3 시험방법

4.3.1 나일론 등과 같은 재질의 메쉬 케이지(20 × 20 × 20 cm, 구멍 크기 0.5 mm)에

25 개체의 대상생물을 투입하여 준비한다.

4.3.2 대상생물을 투입한 메쉬 케이지 4개를 준비하여 피트-그래디 챔버 각 모서리에 천장으로부터 80 cm, 벽으로부터 10 cm 떨어지도록 배치한다.

4.3.3 챔버 바닥 중앙에 날개 직경 30 cm의 선풍기를 천장을 향하도록 배치하고 그릴 위에 지름 30 cm의 원판을 올려둔다.

4.3.4 원판 위에 평가제품을 배치하고 공기 순환을 위해 선풍기를 가동한다(4.5~5.0 m/s).

[주 1] 걸이형 등의 전기를 사용하지 않는 자연 증산제 제품의 경우 챔버 중앙에 천장으로부터 50 cm 거리에 설치한다.

[주 2] 모기향의 경우 점화 후 5분, 매트전자모기향은 가동 후 2시간, 액체전자모기향은 가동 후 1시간이 경과한 뒤 챔버에 투입하여 평가를 시작한다.

4.3.5 음성대조군은 용매만을 처리한 것 또는 무처리군으로 한다.

4.3.6 처리 후 10분 간격으로 60분 동안 개체의 녹다운을 관찰한다.

[주 3] 녹다운 속도가 빨라 KT_{50} 값이 판정되지 않는 경우 관찰간격을 줄이도록 한다.

4.3.7 관찰 종료 후 대상생물을 깨끗한 용기에 옮겨 먹이와 수분 공급 하에 최종 치사율을 확인한다.

4.3.8 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

[주 4] 동일한 시험용기 또는 공간에서 반복시험 진행 시 시험물질이 남아있을 경우 등을 대비해 독성반응을 관찰할 필요가 있다. 대상생물을 투입한 후 30분-1시간 동안 관찰했을 때 독성반응이 나타난다면, 시험을 중단하고 시험용기 또는 공간을 다시 세척하거나 교체해야 한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 처리 후 24시간 경과 시점에서의 치사효과를 기준으로 한다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 죽은 개체수를 기록하여 치사율을 구하고 Abbott 식을 이용해 보정 치사율(%)을 계산한다.

$$\text{보정 치사율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 치사율} - \text{대조군의 치사율})}{(100 - \text{대조군의 치사율})} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.1.3 대조군의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해 활력이 떨어지거나, 시험방법(용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.2 결과의 표시

5.2.1 살생물제품은 기준량, 배량 및 반량 총 3가지 조건에서 시험을 진행한 뒤 60분 경과 시점의 녹다운 결과 및 24시간 이후의 치사율 결과를 제출하도록 한다.

5.2.2 평가제품의 농도를 조절하기 어려운 경우 제품 라벨에 표시된 권장 사용량을 기준으로 기준량, 배량 및 반량을 처리할 수 있다.

5.2.3 살생물제품의 농도 및 처리량을 다르게 처리하기 어려운 경우 제품을 기준량으로 처리하되, 시간에 따른 녹다운 속도를 측정하여 probit 분석을 실시하여 KT_{50} 값을 판정하도록 하며, KT_{50} 값 및 24시간 이후의 치사율을 기록하여 원자료와 함께 제출한다.

살충제 - 실험실시험 - 독먹이시험방법

2021

Insecticide - Laboratory test - Bait Bioassay

1.0 개요

이 시험방법은 대상생물이 섭식하였을 때 효과를 나타내는 방식의 살생물제품을 평가하는 시험이다.

2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

독먹이 제형의 살생물제품을 대상으로 한다.

3.0 대상생물

이 시험방법은 바퀴벌레, 개미 등을 대상으로 한다.

4.0 시험절차

4.1 시험물질

본 시험에서는 살생물제품을 별도의 조작 없이 그대로 사용한다.

4.2 시험방법

4.2.1 시험용기 내에 대상생물을 투입하고, 일정시간의 순화과정을 두어 투입한 개체들이 정상 활동을 회복하는 것을 확인한다.

[주 1] 파리의 경우 암수 동률로 50개체, 바퀴의 경우 암수 동률로 30개체, 개미의 경우 일개미 100개체를 투입한다.

[주 2] 바퀴 및 파리의 경우 70 × 70 × 70 cm의 투명한 상자용기에서 시험을 진행한다.

[주 3] 개미의 경우 40 × 30 × 4 (W×D×H) cm의 흰색 범랑질 상단이 뚫린 사각용기를 사용하고, 사각용기 상단 내벽에 바세린 등을 발라 대상생물의 탈출을 방지한다.

4.2.2 용기의 마주보는 모서리에 살생물제품, 사료 그리고 물을 적신 솜을 페트리디쉬에 올려 배치한다.

[주 4] 개미의 경우 살생물제품과 사료를 범랑질판의 내벽과 각 5 cm씩을 떨어트려 배치하며, 물을 적신 솜을 올린 페트리디쉬는 중앙에 둔다.

[주 5] 바퀴 및 파리의 경우 살생물제품, 사료, 물을 적신 솜을 넣은 페트리디쉬를 나란히 각각 배치한다.

4.2.3 대상생물에 따라 적정 기간까지 매일 죽은 개체수를 확인하며, 사망한 개체들은 가급적 용기에서 제거한다.

[주 6] 파리는 24시간, 바퀴는 12일, 개미는 7일간 관찰한다. 파리는 죽은 개체를 제거하지 않는다.

4.2.4 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 일반적으로 치사효과는 처리 후 24시간 경과 시점의 결과를 기록하도록 하나, 대상생물에 따라 12일 혹은 7일까지 일일 경과를 확인한다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 죽은 개체수를 기록하여 치사율을 구하고 Abbott 식을 이용해 보정 치사율(%)을 계산한다.

$$\text{보정 치사율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 치사율} - \text{대조군의 치사율})}{(100 - \text{대조군의 치사율})} \times 100 \quad (\text{식 } 1)$$

5.1.3 대조군의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해 활력이 떨어지거나, 시험방법(용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.1.4 독먹이제의 경우 지속적인 섭취를 하기에 농도에 따른 차이를 관찰하기 어렵다. 이에, 반수치사량(LD₅₀)값 등은 평가하지 않고 최저농도에 대한 설정만 진행하여 보고한다.

5.2 결과의 표시

5.2.1 시험결과는 시험 종료 시기까지 매일 관찰한 결과를 기록하여 제출한다.

5.2.2 24시간 이상 살충효과를 관찰하는 시험에서는 매일의 치사율을 기준으로 LT₅₀(Median Lethal Time) 값을 판정하도록 한다.

살충제 - 실험실시험 -
흰개미의 독먹이시험방법
Insecticide - Laboratory test -
Bait Bioassay for Termites

2021

1.0 개요

이 시험방법은 대상생물이 섭식하였을 때 효과를 나타내는 방식의 살생물제품을 평가하는 시험이다.

2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

독먹이 제형의 살생물제품을 대상으로 한다.

3.0 대상생물

흰개미(*Reticulitermes speratus kyushuensis*)를 대상으로 한다.

4.0 시험절차

4.1 시험물질

4.1.1 살생물제품은 증류수에 희석하여 저장용액(stock solution)을 만들고 저장용액을 증류수로 희석해 사용하거나 그대로 사용한다.

4.2 시험방법

4.2.1 흰개미의 먹이로 사용될 직경 20 mm의 여과지를 시험물질 용액에 10초간 담근 후 2시간 동안 실온에서 건조시키고 $60 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 에서 10시간 동안 건조시켜 중량을 측정한다.

4.2.2 지름 90 mm의 페트리디쉬에 5 g의 질석이나 10 g의 고운 모래를 깔고 증류수로 적셔 준비한다.

[주 1] 질석이나 고운 모래는 사용 전 250 μm 체를 이용해 거르고 $60 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 48시간 동안 건조한다.

4.2.3 한천 배지(직경 20 mm, 두께 2 mm, 1~1.5%)에 시험물질을 처리한 여과지의 양 끝을 꽂고 준비한 페트리디쉬 위에 올린다.

4.2.4 흰개미 일개미 150개체와 병정개미 15개체를 투입한 후 뚜껑을 닫아 항온항습기 등에 보관해 습도를 유지한다.

4.2.5 음성대조군은 증류수만을 처리하여 평가하며, 증류수를 사용하지 않는 살생물제 품에 대해서는 무처리군을 대조군으로 사용한다.

4.2.6 매 24시간마다 죽은 일개미의 개체수를 확인하고, 죽은 개체수가 3일 간 변하지 않을 경우 시험을 중단한다.

4.2.7 시험에 사용한 여과지를 $60 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 10시간 건조시키고 중량 변화량을 측정해 섭취량을 확인한다.

4.2.8 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 죽은 개체수를 24시간마다 확인하고 시험 종료 시점까지의 총합을 이용한다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 죽은 개체수를 기록하여 치사율을 구

하고 Abbott 식을 이용해 보정 치사율(%)을 계산한다.

$$\text{보정 치사율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 치사율} - \text{대조군의 치사율})}{(100 - \text{대조군의 치사율})} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.1.3 대조군의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해 활력이 떨어지거나, 시험방법(용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.2 결과의 표시

5.2.1 살생물제품의 시험에서 제품의 사용방법을 기준으로 살생물물질의 함량(기준량), 함량의 2배 농도(배량) 및 1/2배 농도(반량)를 처리하여 평가를 진행한다.

5.2.2 시험결과는 시험 시작일로부터 종료일까지 매 24시간 간격으로 조사하여 해당 결과를 원자료와 함께 제출한다.

살충제 - 실험실시험 -
흰개미의 토양처리시험방법

2021

Insecticide - Laboratory test -
Termite Soil Treatment Bioassay

1.0 개요

이 시험방법은 토양에 처리하는 형태의 흰개미 방제제 제품의 효과를 평가하는 방법이다.

2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

흰개미 대상의 토양에 처리하는 비기피성 살생물제품에 적용한다.

3.0 대상생물

흰개미(*Reticulitermes speratus kyushuensis*)를 대상으로 한다.

4.0 시험절차

4.1 시험기구

시험에 사용되는 장치는 직경 5 cm, 높이 8 cm의 투명한 유리원통 2개를 직경 1.5 cm, 길이 10 cm의 투명 유리관으로 바닥에서 1 cm의 거리를 두고 연결한 것을 사용한다.

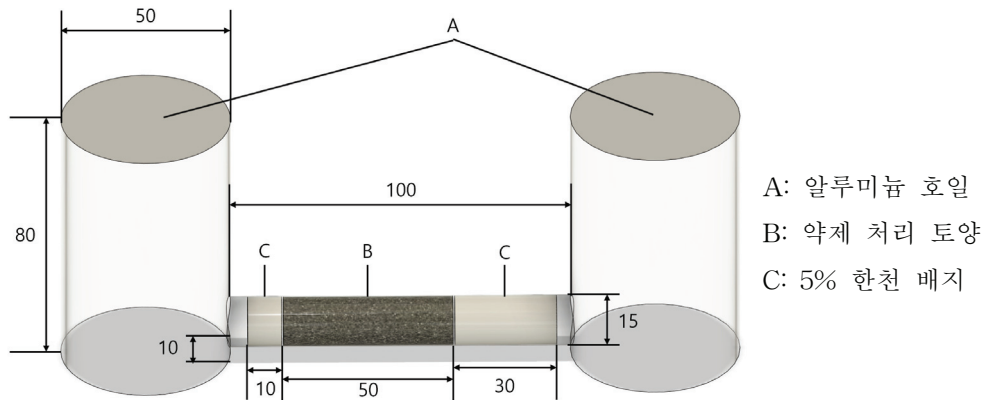


그림 6. 흰개미의 토양처리시험방법에 사용되는 기구 예시

4.2 시험물질

4.2.1 시험에 사용하는 토양은 250 μm 체로 거른 뒤 $60 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 48시간 건조하는 전처리 과정을 거친 사질토를 이용한다.

4.2.2 전처리 과정을 거친 토양과 증류수로 희석한 5개 농도의 시험물질을 25 L/m^3 로 혼합하고 실내에서 1주 이상 보관한다.

4.2.3 보관한 토양을 $54 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 2주간 보관하여 풍화된 토양으로 사용하거나 실온에서 2주 간 보관하여 풍화되지 않은 토양으로 사용한다.

4.3 시험방법

4.3.1 장치의 좌우 원통 바닥에 질석 혹은 고운 모래를 1 cm 두께로 깔고 물로 충분히 적신다.

[주 1] 질석 및 고운 모래는 250 μm 체로 거르고 $60 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 48시간 건조하여 사용한다.

4.3.2 좌우 원통을 연결하는 유리관의 (그림)B 위치에 시험물질을 처리한 토양을 채우고, 양 끝 (그림)C 위치에 5% 한천 배지를 각각 투입한다.

4.3.3 오른쪽 유리원통의 바닥에 흰개미 일개미 200개체, 병정개미 20개체를 투입하고 반대쪽에는 잣나무 등 유인이 가능한 목재를 투입한 뒤, 알루미늄 호일로 상단을 막고 작은 구멍 5개를 뚫는다.

[주 2] 유인용 목재는 고온에서 멸균하여 사용한다.

[주 3] 병정개미는 투입하지만 결과에 포함하지 않는다.

4.3.4 사육 환경과 동일한 온습도 조건 및 암조건 하에서 7일간 매일 관찰한다.

4.3.5 음성대조군은 무처리군으로 한다.

4.3.6 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

[주 4] 동일한 시험용기 또는 공간에서 반복시험 진행 시 시험물질이 남아있을 경우 등을 대비해 독성반응을 관찰할 필요가 있다. 대상생물을 투입한 후 일정 시간 동안 관찰했을 때 독성반응이 나타난다면, 시험을 중단하고 시험용기 또는 공간을 다시 세척하거나 교체해야 한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 일주일 동안 매일 관찰하여 최종 치사율을 확인한다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 죽은 개체수를 기록하여 치사율을 구하고 Abbott 식을 이용해 보정 치사율(%)을 계산한다.

$$\text{보정 치사율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 치사율} - \text{대조군의 치사율})}{(100 - \text{대조군의 치사율})} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.1.3 대조군의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해 활력이 떨어지거나, 시험방법(용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관방법

(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.2 결과의 표시

5.2.1 살생물제품의 시험에서 제품의 사용방법을 기준으로 살생물물질의 함량(기준량), 함량의 2배 농도(배량) 및 1/2배 농도(반량)를 처리하여 평가를 진행한다.

5.2.2 시험결과는 시험 시작일로부터 종료일까지 매 24시간 간격으로 조사하여 해당 결과를 원자료와 함께 제출한다.

살충제 - 모의사용시험 -
직접분사 모의사용시험방법

2021

Insecticide - Simulated-use test -
Direct Spray Bioassay

1.0 개요

1.1 본 시험방법은 살생물제품을 대상생물에 직접 처리하였을 때의 효과를 평가하는 방법으로, 살생물제품의 라벨에 대상에 직접 분사한다고 명시된 경우 본 시험방법을 통해 효과를 평가하도록 한다.

1.2 모의사용시험으로 직접분사시험방법을 사용한 경우 제품의 실험실시험은 동일한 직접분사시험방법이 아닌 다른 시험방법을 사용하는 것이 바람직하다(예: 접촉시험방법 등).

2.0 시험가능 살생물제품 유형

액상분무제, 에어로졸과 같이 압축된 공기 혹은 추진제에 의해 유효성분이 분무되는 제형의 살생물제품을 대상으로 한다.

3.0 대상생물

모기, 파리, 나방 등의 비행곤충 및 바퀴벌레, 개미 등의 포복곤충을 대상으로 한다.

4.0 시험절차

4.1 시험물질

본 시험에서는 살생물제품을 별도의 조작 없이 그대로 사용한다.

4.2 시험방법

4.2.1 위아래에 메쉬를 덧댄 플라스틱, 유리, 스테인레스 재질의 용기 혹은 전체가 메쉬로 된 원기둥 형태의 용기를 준비한다.

[주 1] 용기의 크기는 대상생물의 크기, 행동습성 등에 따라 다양하게 선정할 수 있으나, 행동에 제약을 주지 않아야 한다.

[주 2] 용기의 높이는 5~10 cm 정도가 적절하고, 용기의 지름은 평가 제품의 분사 폭에 따라 결정하며, 최소 7 cm 이상으로 한다.

[주 3] 메쉬의 크기는 대상생물의 탈출을 막을 수 있는 가장 큰 크기로 선정하며, 평가하고자 하는 제품의 흐름을 방해하지 않아야 한다. 또한, 분사된 용액이 용기에 남아있지 않고 통과할 수 있어야 한다.

[주 4] 플라스틱 용기를 사용하는 경우 약제간의 간섭을 피하기 위해 시험에 사용한 용기를 재사용하지 않도록 한다. 유리용기 등을 사용하는 경우 충분히 세척하고 에탄올, 아세톤 등의 용매를 사용하여 2차 세척함으로써 유효성분이 남아있지 않도록 한다.

4.2.2 시험용기 내에 10~20개체의 대상생물을 투입하여 준비한다.

4.2.3 후드가 장착된 시험공간에서 제품을 분사하며, 분사거리는 제품의 라벨에 기재된 내용을 따라 가장 먼 거리에서 분사한다(예를 들어, 제품의 라벨에서 지정된 분사거리가 50~70 cm인 경우, 70 cm 거리에서 분사한다).

4.2.4 분사량은 제품의 라벨에 기재된 내용에 따라 가장 적은 양을 분사한다(예를 들어, 제품의 라벨에서 지정된 분사시간이 3~5초 인 경우, 3초간 분사한다).

4.2.5 음성대조군은 무처리군으로 한다.

4.2.6 분사 후 대상생물이 전부 녹다운되는데 까지 걸린 시간을 측정한다.

4.2.7 분사 후 15분이 경과한 시점에서 대상생물을 깨끗한 용기로 옮겨주고, 필요 시 사료와 수분을 공급하여 최종 치사율을 관찰한다.

4.2.8 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

[주 5] 동일한 시험용기 또는 공간에서 반복시험 진행 시 시험물질이 남아있을 경우 등을 대비해 독성반응을 관찰할 필요가 있다. 대상생물을 투입한 후 일정 시간 동안 관찰했을 때 독성반응이 나타난다면, 시험을 중단하고 시험용기 또는 공간을 다시 세척하거나 교체해야 한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 처리 후 24시간 경과 시점에서의 치사효과를 기준으로 한다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 죽은 개체수를 기록하여 치사율을 구하고 Abbott 식을 이용해 보정 치사율(%)을 계산한다.

$$\text{보정 치사율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 치사율} - \text{대조군의 치사율})}{(100 - \text{대조군의 치사율})} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.1.3 대조군의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해 활력이 떨어지거나, 시험방법(용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.2 결과의 표시

5.2.1 시험결과는 처리 후 15분 경과 시점의 최종 녹다운 효과와 24시간 경과 시점의 보정 치사율 값을 제출한다.

5.2.2 살생물제품의 속효성을 평가하는 경우, 15분 경과 시점의 최종 녹다운 효과가 아닌 KT_{50} 및 KT_{90} 값으로 녹다운 효과를 표시할 수 있다.

살충제 - 모의사용시험 -
접촉(잔류) 모의사용시험방법

2021

Insecticide - Simulated-use test -
Contact (residual) Bioassay

1.0 개요

본 시험방법은 살생물제품을 시험표면에 처리한 후 대상생물을 접촉시켜 효과를 평가하는 방법으로, 살생물제품의 라벨에 대상이 지나가기 쉬운 길에 처리하도록 하거나 처리 후의 효과의 지속시간이 명시된 경우 본 시험방법을 통해 효과를 평가하도록 한다.

2.0 시험가능 살생물제품 유형

액상분무제, 에어로졸 등과 같이 시험표면에 도포할 수 있는 제형의 살생물제품을 대상으로 한다.

3.0 대상생물

모기, 파리, 나방 등의 비행곤충 및 바퀴벌레, 개미 등의 포복곤충을 대상으로 한다.

4.0 시험절차

4.1 시험물질

본 시험에서는 살생물제품을 별도의 조작 없이 그대로 사용한다.

4.2 시험방법

4.2.1 표면의 크기는 최소 10 × 10 cm로 준비되어야 하며, 다공성(porous) 표면의 경우 0.5 cm 이상의 두께를 지닌 목재를 사용한다.

[주 1] 다공성 표면으로는 미가공 목재를, 무공성 표면으로는 세라믹 타일을 준비하며, 만약 제품이 카펫 등 기타 목적을 명시한 경우라면 해당 표면도 시험을 실시 해야한다.

4.2.2 살생물제품을 라벨에 명시된 최소한의 시간동안 표면에 처리하되, 만약 처리 거리가 명시되어 있다면 이보다 먼 거리에서 처리한다.

4.2.3 처리된 표면을 24시간동안 무풍의 광조건 하에 보관한 뒤, 대상생물 10~20개체를 투입하여 노출시킨다.

4.2.4 WHO cone 혹은 페트리디쉬 등을 이용해 대상생물의 탈출을 방지한다.

[주 2] 대상생물이 표면에 노출되는 시간은 실제 환경과 유사하여야 하므로, 포복곤충의 경우 최대 4시간, 비행곤충의 경우 최대 1시간 표면에 노출하여야 한다.

4.2.5 음성대조군은 무처리군으로 한다.

4.2.6 대상생물 투입 후 모든 개체가 녹다운되는데 까지 걸린 시간을 측정한다.

4.2.7 충분한 노출 이후 시험표면 위의 대상생물을 깨끗한 용기로 옮겨주고, 필요시 먹이와 수분을 공급하여 최종 치사율을 관찰한다.

4.2.8 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 처리 후 24시간 경과 시점에서의 치사효과를 기준으로 한다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 죽은 개체수를 기록하여 치사율을 구하고 Abbott 식을 이용해 보정 치사율(%)을 계산한다.

$$\text{보정 치사율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 치사율} - \text{대조군의 치사율})}{(100 - \text{대조군의 치사율})} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.1.3 대조군의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해 활력이 떨어지거나, 시험방법(용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.2 결과의 표시

5.2.1 시험결과는 처리 후 적절한 노출 시간이 지난 후 최종 녹다운 효과와 24시간 경과 시점의 보정 치사율 값을 제출한다.

5.2.2 살생물제품의 속효성을 평가하는 경우, KT_{50} 및 KT_{90} 값으로 녹다운 효과를 표시할 수 있다.

살충제 - 모의사용시험 -
공간분사 모의사용시험방법

2021

Insecticide - Simulated-use test -
Space Spray Bioassay

1.0 개요

본 시험방법은 살생물제품을 대상생물이 존재하는 공간에 분사하였을 때의 효과를 평가하는 방법으로, 살생물제품의 라벨에 일정 공간에 대해 제품을 처리하도록 명시된 경우 본 시험방법을 통해 효과를 평가하도록 한다.

2.0 시험가능 살생물제품 유형

전량분사에어로졸, 공간 스프레이, 실내 및 야외용 연무제와 같이 시험공간에 분사하는 제형의 살생물제품을 대상으로 한다.

3.0 대상생물

모기, 파리, 나방 등의 비행곤충 및 바퀴벌레, 개미 등의 포복곤충을 대상으로 한다.

4.0 시험절차

4.1 시험물질

본 시험에서는 살생물제품을 별도의 조작 없이 그대로 사용한다.

4.2 시험방법

4.2.1 시험공간의 크기는 제품의 라벨에 표시된 크기와 동일한 환경에서 진행되는 것이 바람직하나, 부득이한 경우 사용량 및 적용면적의 비율을 유지하면서 그보다 작은 공간에서 진행할 수 있다.

[주 1] 다만 시험공간의 크기는 WHO에서 제시한 피트-그래디 챔버(180 × 180 × 180 cm)보다 작을 수는 없다.

4.2.2 시험공간 내부에 50-100개체의 시험곤충을 투입한다.

[주 2] 모기, 파리의 경우 암컷 성충만을 사용하며, 바퀴벌레의 경우 성별과 상관없이 투입한다.

[주 3] 대상생물에 따라 은신처를 넣어줄 수 있는데, 바퀴벌레의 경우 카드보드를 시험공간 내에 넣어준다.

4.2.3 평가 제품의 라벨에 기재된 내용에 따라 가장 적은 양을 분사한다(예를 들어, 제품의 라벨에서 지정된 분사시간이 3~5초 인 경우, 3초간 분사한다).

[주 4] 제품의 라벨에 기재된 대상공간보다 작은 공간에서(최소 피트-그래디 챔버) 시험을 진행하는 경우, 해당 비율에 따라 분사시간을 조절한다.

4.2.4 음성대조군은 무처리군으로 한다.

4.2.5 살생물제품의 라벨에 명시된 노출 시간이 지나면 챔버를 즉시 환기하고, 대상생물을 깨끗한 용기에 옮긴 뒤 먹이와 수분 공급 하에 최종 치사율을 관찰한다.

[주 5] 별도의 시간이 기재되지 않은 경우 최대 1시간까지 노출하도록 한다.

4.2.6 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

[주 6] 동일한 시험용기 또는 공간에서 반복시험 진행 시 시험물질이 남아있을 경우 등을 대비해 독성반응을 관찰할 필요가 있다. 대상생물을 투입한 후 일정 시간 동안 관찰했을 때 독성반응이 나타난다면, 시험을 중단하고 시험용기 또는 공간을 다시 세척하거

나 교체해야 한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 처리 후 24시간 경과 시점에서의 치사효과를 기준으로 한다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 죽은 개체수를 기록하여 치사율을 구하고 Abbott 식을 이용해 보정 치사율(%)을 계산한다.

$$\text{보정 치사율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 치사율} - \text{대조군의 치사율})}{(100 - \text{대조군의 치사율})} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.1.3 대조군의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해 활력이 떨어지거나, 시험방법(용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.2 결과의 표시

5.2.1 시험결과는 처리 후 적절한 노출 시간이 지난 후 최종 녹다운 효과와 24시간 경과 시점의 보정 치사율 값을 제출한다.

5.2.2 살생물제품의 속효성을 평가하는 경우, KT_{50} 및 KT_{90} 값으로 녹다운 효과를 표시할 수 있다.

살충제 - 모의사용시험 -
독먹이 모의사용시험방법

2021

Insecticide - Simulated-use test -
Insecticidal Bait Bioassay

1.0 개요

본 시험방법은 치사효과를 지닌 성분을 함유한 설치형 먹이 살생물제품의 효과를 평가하는 방법으로, 살생물제품의 라벨에 유인살충효과를 명시한 경우 본 시험방법을 통해 효과를 평가하도록 한다.

2.0 시험가능 살생물제품 유형

독먹이제와 같이 시험공간에 설치하는 제형의 살생물제품을 대상으로 한다.

3.0 대상생물

파리 등의 비행곤충 및 바퀴벌레, 개미 등의 포복곤충을 대상으로 한다.

4.0 시험절차

4.1 시험기구

시험공간은 바퀴벌레의 경우 OECD가 제시하는 에벨링 박스(Ebeling box)를, 파리의 경우 메쉬로 막힌 60 × 60 × 90 (W×D×H) cm 의 케이지를, 개미의 경우 60 × 60 × 60 cm 이상의 케이지가 권고된다.

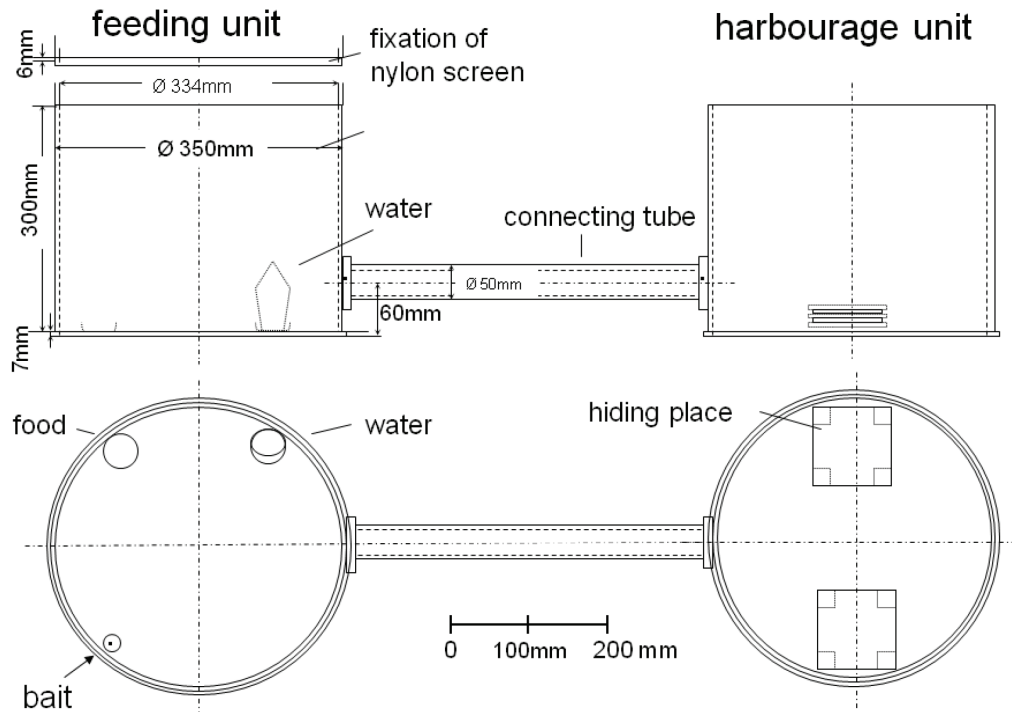


그림 7. 에벨링 박스의 예시 도면(ENV/JM/MONO(2013)3)

4.2 시험물질

본 시험에서는 살생물제품을 별도의 조작 없이 그대로 사용한다.

4.3 시험방법

4.3.1 시험공간 내에 대상생물을 배치하고 최소 24시간 이상 환경에 순응시킨다.

[주 1] 개미의 경우, 일개미 뿐 아니라 여왕개미를 포함한 최소 100개체로 이루어진 군체를 손상 없이 시험공간으로 옮겨야 한다.

4.3.2 24시간 순응이 끝난 후, 살생물제품을 라벨에 명시된 위치에 배치한다.

[주 2] 살생물제품을 처리하기 전, 대상생물이 유효성분을 제외한 다른 성분들에 대한 충분한 선호도를 보이는지 파악하고 제품 내로 대상생물이 충분히 들어갈 수 있는지 구

조인지 확인할 필요가 있다.

4.3.3 음성대조군은 무처리군으로 한다.

4.3.4 라벨에 녹다운 기대 시간이 명시되어 있다면 해당 정보를 기준으로 녹다운 관찰 간격을 정하고, 그렇지 않다면 1일 간격으로 녹다운을 관찰한다.

4.3.5 살생물제품의 라벨에 명시된 노출 시간이 지나면 시험공간을 즉시 환기하고, 대상생물을 깨끗한 용기로 옮겨준 뒤, 먹이와 수분의 공급 하에 최종 치사율을 관찰한다.

[주 3] 유효성분의 작용기작에 따라 시험 기간은 상이할 수 있으나, 14일을 넘기지 않도록 한다.

4.3.6 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

[주 4] 동일한 시험용기 또는 공간에서 반복시험 진행 시 시험물질이 남아있을 경우 등을 대비해 독성반응을 관찰할 필요가 있다. 대상생물을 투입한 후 일정 시간 동안 관찰했을 때 독성반응이 나타난다면, 시험을 중단하고 시험용기 또는 공간을 다시 세척하거나 교체해야 한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 각 관찰 시점에서의 치사효과를 기준으로 한다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 죽은 개체수를 기록하여 치사율을 구하고 Abbott 식을 이용해 보정 치사율(%)을 계산한다.

$$\text{보정 치사율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 치사율} - \text{대조군의 치사율})}{(100 - \text{대조군의 치사율})} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.1.3 대조군의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해

활력이 떨어지거나, 시험방법(용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.2 결과의 표시

5.2.1 시험결과는 처리 후 적절한 노출 시간이 지난 후 최종 녹다운 효과와 보정 치사율 값을 제출한다.

5.2.2 살생물제품의 속효성을 평가하는 경우, KT_{50} 및 KT_{90} 값으로 녹다운 효과를 표시할 수 있다.

살충제 - 모의사용시험 -
수중처리 모의사용시험방법
Insecticide - Simulated-use test -
Immersion Bioassay

2021

1.0 개요

이 시험방법은 수중에 처리하는 형태의 살생물제품을 평가하기 위한 모의사용시험이다.

2.0 시험가능 살생물제품 유형

수중에 처리하는 살생물제품을 대상으로 한다.

3.0 대상생물

모기 유충을 대상으로 한다.

4.0 시험절차

4.1 시험물질

살생물제품을 별도의 조작없이 제품의 라벨에 기재된 내용에 따라 시험한다.

4.2 시험방법

4.2.1 바닥 면적이 20 × 20 cm 이상의 15 L 용기 내부에 절반 높이까지 물을 채우고 추천 약량에 근거해 적정 약량을 계산하여 물에 혼합한다.

[주 1] 시험에 사용된 물은 채집한 곳의 물이나 대상생물의 정상 활동에 지장을 주지 않는 물을 사용해야 한다.

[주 2] 용기 외부 벽면에 수면의 높이를 표시하고 해당 표시보다 낮아졌을 경우 물을 보충해 주어야 한다.

4.2.2 음성대조군은 무처리군으로 한다.

4.2.3 시험물질을 혼합한 물이 든 용기에 20 × 20 × 20 cm 크기의 메쉬로 된 케이지를 넣고 30개체의 대상생물을 투입한다.

4.2.4 케이지 상단은 수면에 닿지 않도록 조심하여 메쉬를 덮는다.

[주 3] 메쉬는 시험물질과 사료가 통과할 수 있지만 3령 이상의 유충이 통과할 수 없는 정도의 규격을 사용해야 한다.

4.2.5 대상생물 투입 후 24, 48, 72시간 마다 죽은 개체수를 확인하고, 곤충성장조절제의 경우 투입 약 7일 후 살아있는 유충의 수와 번데기의 수를 계수한다.

[주 4] 곤충성장조절제의 경우 7일 후 번데기들을 모아 사육 케이지에 넣어 우화 여부를 관찰 한다. 관찰은 무처리군의 모든 개체가 우화할 때까지 진행한다.

4.2.6 제품 투입 후 일정 기간마다 동일한 방식으로 시험을 진행하여 사용시간 경과에 따른 효력 유지 정도를 평가할 수 있다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 살생물제품의 종류에 따라 3일 후의 치사율 혹은 최종 관찰 시점의 우화저해율을 계산한다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 죽은 개체수를 기록하여 치사율을 구하고 Abbott 식을 이용해 보정 치사율(%)을 계산한다.

5.1.3 곤충성장조절제의 경우 치사율을 우화저해율로 대체한다.

$$\text{보정 치사율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 치사율} - \text{대조군의 치사율})}{(100 - \text{대조군의 치사율})} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.1.4 무처리군의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해 활력이 떨어지거나, 시험방법(용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관 방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.2 결과의 표시

5.2.1 시험결과는 처리 후 적절한 노출 시간이 지난 후 최종 보정 치사율 또는 보정 우화저해율 값을 제출한다.

살충제 - 모의사용시험 - 저장물해충의 혼증독성 모의사용시험방법

2021

Insecticide - Simulated-use test -
Fumigation Bioassay for Stored Product Insect Pests

1.0 개요

본 시험방법은 쌀 등의 곡물을 보관하는 용기에 투입하여 저장용기 내부로 저장물해충이 유인되는 것을 억제하거나 곡물 내부의 저장물해충을 제거하는 목적을 가진 살충제의 효과를 평가하는 방법이다. 제품의 실사용 조건을 가정하여, 곡물 저장용기 내부에 존재하고 있는 저장물해충에 대한 제품의 치사효과를 평가한다.

2.0 시험가능 살생물제품 유형

휘발용기에 포함된 액상 또는 고상의 내용물이 휘발되며 약효를 발휘하는 증산형 살생물제품 등을 대상으로 한다.

3.0 대상생물

어리쌀바구미(*Sitophilus zeamais*)를 비롯한 저장물해충을 대상으로 한다.

4.0 시험절차

4.1 시험기구

밀봉이 가능한 뚜껑이 있는 플라스틱 재질의 상자를 혼증 시험용기로 사용하며, 10 kg의 곡물을 투입할 수 있을 정도로 충분한 크기가 되어야 한다.

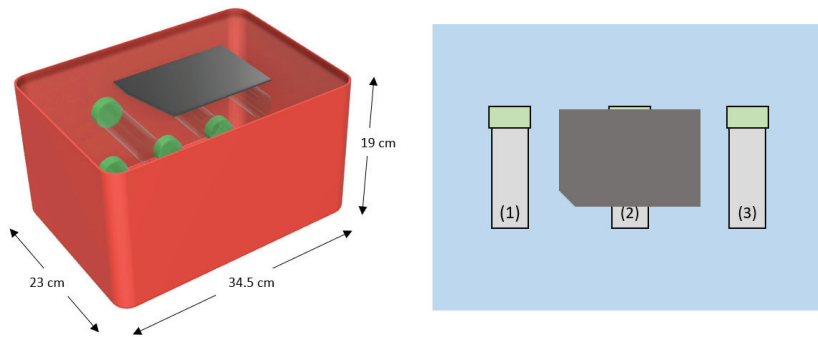


그림 7. 저장물해충의 혼증독성 모의사용시험방법 예시

4.2 시험물질

본 시험에서는 살생물제품을 별도의 조작 없이 그대로 사용한다.

4.3 시험방법

4.3.1 공기 순환이 가능하도록 양면에 메쉬를 덧댄 약 50 mL 크기의 원통형 튜브에 어리쌀바구미 50개체를 15 g의 쌀과 함께 투입한다.

4.3.2 대상생물이 투입된 튜브 6개를 준비하여, 3개의 튜브를 상자 하단에 부착하고 10 kg의 곡물을 투입한 이후 곡물의 상단부에 나머지 3개의 튜브를 배치한다.

4.3.3 상자의 뚜껑 안쪽에 평가하고자 하는 제품을 부착하고, 닫아서 밀봉한다.

4.3.4 음성대조군은 무처리군으로 한다.

4.3.5 대상생물의 사육조건과 동일한 환경조건(주로 25±2℃, 상대습도 60±10%)에서 2주간 뚜껑을 열지 않고 보관한다.

[주 1] 평가 용기 내부의 습도가 너무 높은 경우에는 곰팡이 등의 미생물이 발생할 수 있으므로 유의한다. 미생물의 발생을 막기 위해 시험기간 중 수 일 간격으로 짧은 시간 동안 환기를 할 수 있다.

4.3.6 2주간 훈증보관이 완료된 이후 6개의 튜브를 수거하여 각 튜브별 대상생물의 생존 여부를 확인한다.

4.3.7 평가제품이 수 개월간의 장기사용을 목적으로 하는 경우, 제품을 개봉하여 실생활 조건에서 보관하고, 제품의 개봉초기, 사용종료 50% 시점 및 사용종료 90% 시점에서 동일한 방식으로 시험을 진행하여 사용시간 경과 따른 효력 유지 정도를 평가한다.

4.3.8 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

[주 2] 동일한 시험용기 또는 공간에서 반복시험 진행 시 시험물질이 남아있을 경우 등을 대비해 독성반응을 관찰할 필요가 있다. 대상생물을 투입한 후 일정 시간 동안 관찰했을 때 독성반응이 나타난다면, 시험을 중단하고 시험용기 또는 공간을 다시 세척하거나 교체해야 한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 각 관찰시점에서의 치사효과를 기준으로 한다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 죽은 개체수를 기록하여 치사율을 구하고 Abbott 식을 이용해 보정 치사율(%)을 계산한다.

$$\text{보정 치사율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 치사율} - \text{대조군의 치사율})}{(100 - \text{대조군의 치사율})} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.1.3 대조군의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해 활력이 떨어지거나, 시험방법(용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.2 결과의 표시

5.2.1 해당 방식으로 시험을 진행하였을 때, 평가제품이 주장하는 사용 기간을 기준으로 제품의 개봉 시점, 50% 및 90% 사용 완료 시점에서의 보정 치사율 값을 제출한다.

살충제 - 모의사용시험 - 섬유가해해충의 훈증독성 모의사용시험방법

2021

Insecticide - Simulated-use test -
Fumigation Bioassay for Fabric-attacking Insect Pests

1.0 개요

본 시험방법은 섬유를 가해하거나 옷장, 서랍장과 같은 가구 주변에서 발견되는 좀류, 먼지다듬이류 등의 좀벌레를 방제하는 목적을 가진 좀벌레 방제제 제품의 효력을 평가하는 방법이다. 제품의 실사용 조건을 가정하여, 일반 가정의 옷장 및 서랍장을 모사한 크기의 시험용기에서 제품의 치사효과를 평가한다.

2.0 시험가능 살생물제품 유형

유효성분을 부직포 등에 함침시킨 형태 혹은 원료 자체를 타정하여 만든 형태의 살생물제품을 대상으로 한다.

3.0 대상생물

먼지다듬이류(*Liposcelis* spp.) 및 좀류(*Ctenolepisma* sp.) 등의 섬유가해해충을 대상으로 한다.

4.0 시험절차

4.1 시험기구

제품이 목적하는 표준 사용공간 크기의 시험용기를 준비한다. 가정의 일반적인 상황을 고려했을 때, 옷장의 경우 500 L, 서랍장의 경우 50 L 정도이다.

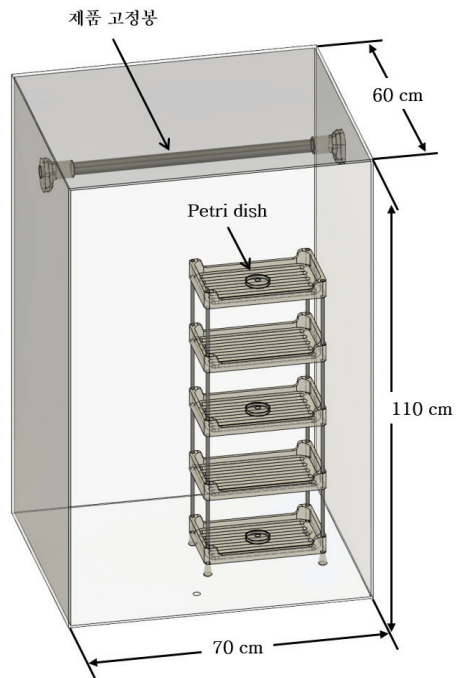


그림 8. 섬유가해해충의 혼증독성 모의사용시험방법 예시

4.2 시험물질

본 시험에서는 살생물제품을 별도의 조작 없이 그대로 사용한다.

4.3 시험방법

4.3.1 대상생물 10개체를 메쉬가 있어 통기가 가능한 페트리디쉬에 일정량의 사료와 함께 투입하여 준비한다.

4.3.2 시험용기 내부에 해당 시험공간을 세로로 2등분 혹은 3등분하고 각 지점에 선반등을 부착하여 대상생물이 포함된 페트리디쉬를 배치한다.

4.3.3 시험 시작 전 제품을 투입하지 않은 상태에서 1시간 이상 대상생물의 반응을 관찰한다.

4.3.4 제품을 개봉하여 실제 사용하는 형태와 유사하게 배치하고, 시험용기를 밀봉한다.

4.3.5 음성대조군은 무처리군으로 한다.

4.3.6 대상생물의 사육조건과 동일한 환경조건(주로 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, 상대습도 $60\pm 10\%$)에서 2주간 밀봉한 채로 보관하거나, 시험에 따라 2~3일에 한 번씩 용기를 개봉하여 습도 조절 및 환기를 진행한다.

[주 1] 평가 용기 내부의 습도가 너무 높은 경우에는 곰팡이 등의 미생물이 발생할 수 있으므로 유의한다.

4.3.7 2주간 혼증보관이 완료된 이후 배치한 대상생물 보관용기를 회수하여 각 시험구별 대상생물의 생존 여부를 평가한다.

4.3.8 평가제품이 수 개월간의 장기사용을 목적으로 하는 제품인 경우, 실생활 조건에서 제품을 개봉하여 휘발을 진행하고, 제품의 개봉초기, 사용종료 50% 시점 및 사용종료 90% 시점에서 동일한 방식으로 시험을 진행하여 휘발 기간에 따른 효력 유지 정도를 평가한다.

4.3.9 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

[주 2] 동일한 시험용기 또는 공간에서 반복시험 진행 시 시험물질이 남아있을 경우 등을 대비해 독성반응을 관찰할 필요가 있다. 대상생물을 투입한 후 일정 시간 동안 관찰했을 때 독성반응이 나타난다면, 시험을 중단하고 시험용기 또는 공간을 다시 세척하거나 교체해야 한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 각 관찰시점에서의 치사효과를 기준으로 한다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 투입 개체수 대비 죽은 개체수를 기록하여 치사율을 구하고 Abbott 식을 이용해 보정 치사율(%)을 계산한다.

$$\text{보정 치사율(\%)} = \frac{(\text{처리군의 치사율} - \text{대조군의 치사율})}{(100 - \text{대조군의 치사율})} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.1.3 대조군의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해 활력이 떨어지거나, 시험방법(용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.2 결과의 표시

5.2.1 해당 방식으로 시험을 진행하였을 때, 평가제품이 주장하는 사용 기간을 기준으로 제품의 개봉 시점, 50% 및 90% 사용 완료 시점에서의 보정 치사율 값을 제출한다.

3부

기피제

기피제 - 모기

2021

Repellent - Mosquitoes

1.0 목적

기피제 중 모기 방제를 위한 살생물물질 및 살생물제품의 효과·효능을 평가하기 위한 시험대상생물종 및 시험방법의 종류를 제시하였다.

1.1 시험대상생물종

1.1.1 본 시험방법에서 대상으로 하는 모기로는 얼룩날개모기류(*Anopheles* spp.), 금빛 숲모기(*Aedes vexans nipponii*), 작은빨간집모기(*Culex tritaeniorhynchus*), 빨간집모기군(*Culex pipiens* complex), 흰줄숲모기(*Aedes albopictus*) 등이 있다.

1.1.2 살생물제품의 라벨 상에 ‘모기’를 기피 대상으로 기재하고자 하는 경우 *Culex* 속 모기 1종, *Aedes* 속 모기 1종, 총 2종에 대한 평가를 모두 완료하여야 한다.

1.2 살생물물질에 대한 시험

모기에 대한 살생물물질의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	비행곤충의 공간기피시험방법 NIER-BP-E7-100	살생물물질 자체에 대한 회피현상을 평가
실험실시험	비행흡혈곤충의 숙주탐색저해시험방법 NIER-BP-E7-101	살생물물질에 의한 먹이탐색 행동 억제효과에 대한 평가

1.3 살생물제품에 대한 시험

모기에 대한 살생물제품의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 따라 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	비행곤충의 공간기피시험방법 NIER-BP-E7-100	인체 비접촉 제품의 공간기피효과를 평가
모의사용시험	비행흡혈곤충의 모의사용 공간기피시험방법 NIER-BP-E7-200	인체 비접촉 제품의 공간기피효과를 평가

기피제 - 저장물해충

2021

Repellent - Stored Product Insect Pests

1.0 목적

저장물해충 방제를 위한 살생물물질 및 살생물제품 기피제의 효과·효능을 평가하는 방법을 제시하였다.

1.1 시험대상생물종

1.1.1 본 시험방법에서 대상으로 하는 저장물해충으로는 보리나방(*Sitotroga cerealella*), 거릿쌀도둑거저리(*Tribolium castaneum*), 어리쌀도둑거저리(*Tribolium confusum*), 어리쌀바구미(*Sitophilus zeamais*), 쌀바구미(*Sitophilus oryzae*), 머리대장가는납작벌레(*Oryzaephilus surinamensis*), 화랑곡나방(*Plodia interpunctella*), 아메리카왕거저리(*Zophobas morio*), 권연벌레(*Lasioderma serricorne*), 인삼벌레(*Stegobium paniceum*), 팔바구미(*Callosobruchus chinensis*) 등이 있다.

1.1.2 살생물제품의 라벨 상에 ‘저장물해충’을 방제 대상으로 기재하고자 하는 경우에는 국내의 저장물해충 중 우점종인 어리쌀바구미와 화랑곡나방 2종에 대해 평가를 모두 완료하여야 한다.

1.2 살생물물질에 대한 시험

저장물해충에 대한 살생물물질의 효력시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

시험방법의 명칭	평가의 목적
포복곤충의 유인억제시험방법	곡물 등의 유인물질이 존재하는 상황에서

NIER-BP-E7-102	유인물질에 대한 침입 저지효과를 평가
선택적 기피시험방법 NIER-BP-E7-103	유인물질과 상관없이 살생물물질 자체가 가진 시험생물에 대한 기피효과를 평가

1.3 살생물제품에 대한 시험

저장물해충에 대한 살생물제품의 효력시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실 시험	선택적 기피시험방법 NIER-BP-E7-103	유인물질(곡물 등)이 존재하지 않는 상황에서 살생물제품 자체가 가진 기피효과를 평가
모의 사용시험	저장물해충의 유인억제시험방법 NIER-BP-E7-201	곡물 저장용기로 침입하려는 저장물해충에 대한 침입을 차단하는 기피효과를 평가

기피제 - 섬유가해해충

2021

Repellent - Textile-attacking Insect Pests

1.0 목적

섬유가해해충 방제를 위한 살생물물질 및 살생물제품의 효과·효능을 평가하는 방법을 제시하였다.

1.1 시험대상생물종

1.1.1 본 시험방법에서 대상으로 하는 섬유가해해충으로는 곡식좀나방(*Nemapogon granella*), 거미줄옷좀나방(*Tineola bisselliella*), 옷좀나방(*Tinea translucens*), 좀류(*Ctenolepisma* spp.), 애수시렁이(*Attagenus unicolor japonicus*), 먼지다듬이류(*Liposcelis* spp.) 등을 포함한다.

1.1.2 살생물제품의 라벨 상에 ‘섬유가해해충’을 방제 대상으로 기재하고자 하는 경우에는 좀류에 대한 시험을 필수적으로 포함하고 옷좀나방, 애수시렁이, 먼지다듬이류 중 1종을 추가로 평가하도록 한다.

1.2 살생물물질에 대한 시험

섬유가해해충에 대한 살생물물질의 효력시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

시험방법의 명칭	평가의 목적
비선택적 기피시험방법 NIER-BP-E7-104	유인물질과 상관없이 살생물물질 자체에 대한 시험생물에 대한 기피효과를 평가
선택적 기피시험방법 NIER-BP-E7-103	유인물질과 상관없이 살생물물질 자체에 대한 시험생물에 대한 기피효과를 평가

1.3 살생물제품에 대한 시험

섬유가해해충에 대한 살생물제품의 효력시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

단계	시험방법의 명칭	평가의 목적
실험실시험	선택적 기피시험방법 NIER-BP-E7-103	유인물질이 존재하지 않는 상황에서 살생물제품 자체가 가진 기피효과를 평가
모의사용시험	섬유가해해충의 선택적 기피시험방법 NIER-BP-E7-202	섬유가해해충 방제 제품의 사용환경을 모사한 조건에서의 기피효과 평가

기피제 - 실험실시험 - 비행곤충의

2021

공간기피시험방법

Repellent - Laboratory test -

Spatial Repellency Test for Flying Insects

1.0 개요

1.1 곤충독성학적 관점에서 기피효과는 크게 (1)평가 물질 자체에 대한 대상생물의 행동학적 회피 현상과 (2)단백질 공급원으로서의 숙주에 대한 흡혈 억제현상의 2가지로 구분될 수 있다.

1.2 본 시험방법은 대상생물에 대해 살생물물질 자체가 가진 기피효과를 평가하는 방법이다.

1.3 본 시험방법은 기본적으로 WHO에서 발행한 ‘Guidelines for Efficacy Testing of Spatial Repellent’를 따르고 있으며, 본 시험방법에서 논의되지 않은 사항은 해당 시험방법을 참조한다.

2.0 시험가능 살생물물질 유형

이 시험방법은 주로 살생물물질을 대상으로 하며, 살생물제품의 실험실시험에 사용이 가능하다.

3.0 대상생물

모기, 파리 등의 비행곤충을 대상으로 한다.

4.0 시험절차

4.1 시험기구

4.1.1 중앙의 투명한 실린더(2)는 2개의 문이 달린 금속재질의 테스트 실린더(1, 대조군 및 시험군)와 연결되어 있다.

4.1.2 테스트 실린더(1)에 부착된 밸브형의 문(4)은 시험 생물의 이동을 방해하지 않으며 시험 종료 후 닫아 개체수를 실샘하는 목적으로 사용된다.

4.1.3 테스트 실린더(1)는 알루미늄재질로 두께 0.6 cm, 외경 10.2 cm, 길이 14.0 cm의 크기이다.

4.1.4 중앙의 투명 실린더(2)는 길이는 15.9 cm, 외경 10.2 cm로 되어 있으며, 중앙에 시험생물 투입구가 있다.

4.1.5 엔드캡(두께 1.9 cm, 지름 10.2 cm)에는 투명한 관찰창을 부착한다.

4.1.6 테스트 실린더(1) 내부에 삽입이 가능하도록 외경 9.5 cm로 제작된 알루미늄 재질의 드럼(5) 외부를 나일론 재질의 천(6)으로 감싼다.

4.1.7 조립된 시험용기가 흔들리지 않도록 받침대 위에 올려 시험을 실시한다.

[주 1] 본 시험기구는 해당 시험을 진행하기 위한 방법 중의 하나로, 원칙적으로 필요에 따라 수정이 가능하다. 예를 들어, 알루미늄 재질의 용기는 투명한 재질의 유리나 플라스틱으로 변경이 가능하며, 용기의 길이 및 지름 또한 대상생물의 행동방식 등에 따라 적절하게 수정하여 사용할 수 있다.

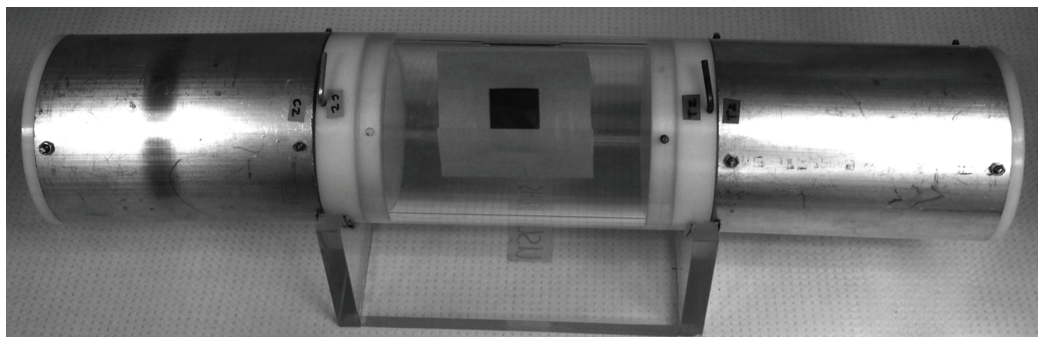
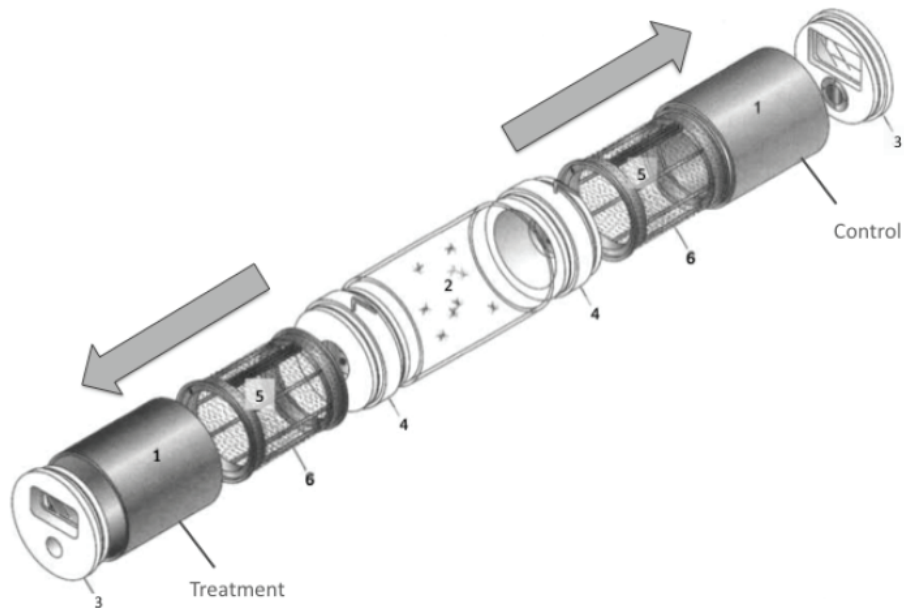


그림 1. 공간기피 시험기구 도면(상, WHO) 및 실제 조립사진(하, Wagman et al., PLoS Negl Trop Dis 9(4): e0003726)

4.2 시험물질

4.2.1 살생물물질은 에탄올, 아세톤 등과 같이 휘발성이 높은 용매에 녹여 사용한다.

4.3 시험방법

4.3.1 11 × 25 cm (275 cm²) 크기로 자른 여과지에 용매에 녹인 적량의 살생물물질 용액 1.5 mL를 처리한다.

4.3.2 처리 후 30분 혹은 그 이하의 적절한 시간동안 여과지를 휘산시켜 용매가 완전히 증발한 것을 확인한다.

[주 2] 시험의 목적에 따라 처리되는 표면은 여과지 이외에도 먼, 폴리에스테르 등을 사용할 수 있다.

4.3.3 여과지를 시험기구의 테스트실린더(1)에 부착하고 드럼(5)을 밀어 넣어 고정한다. 여과지 투입 전 시험기구의 밸브가 잠겨 있어 평가하고자 하는 성분이 중앙 실린더(2)로 누출되지 않는 것을 확인한다.

4.3.4 음성대조군은 용매만을 처리하여 평가하며, 용매를 사용하지 않는 살생물제품에 대해서는 무처리군을 대조군으로 사용한다.

4.3.5 모기를 대상으로 하는 경우 20개체의 암컷 성충을 중앙 실린더(2)에 투입하여 최소 30초 이상 환경에 순응하도록 한다.

4.3.6 양쪽의 밸브를 동시에 개방하여 대상생물이 자유롭게 이동하도록 한다.

4.3.7 시험 시작 후 10분 후에 밸브를 닫고 양쪽에 모인 대상생물의 개체수를 기록한다. 시험기간 내 녹다운 된 개체가 있는 경우 해당 개체의 숫자 또한 별도로 기록한다.

4.3.8 기피효과를 측정한 이후 시험용기는 24시간 동안 보관하여 치사율을 기록한다.

4.3.9 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

[주 3] 동일한 시험용기 또는 공간에서 반복시험 진행 시 시험물질이 남아있을 경우 등을 대비해 독성반응을 관찰할 필요가 있다. 시험 시작 전 대상생물을 투입한 후 일정 시간동안 관찰했을 때 독성반응이 나타난다면, 시험을 중단하고 시험용기 또는 공간을 다시 세척하거나 교체해야 한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 평가하고자 하는 살생물물질 및 살생물제품의 기피효과는 공간기피지표(Spatial activity index)로 아래 식을 이용해 계산한다.

$$\text{공간기피지표}(SAI) = \left[\frac{(\text{대조군의 개체수} - \text{시험군의 개체수})}{(\text{대조군의 개체수} + \text{시험군의 개체수})} \right] \times \left(\frac{\text{실린더 내 개체수의 합}}{\text{전체 시험에 사용된 개체수}} \right)$$

(식 1)

5.1.2 공간기피지표는 -1에서 1 사이로 표현되며, 0은 반응이 없는 경우를 의미하고, -1은 모든 시험 생물이 처리군으로 이동한 경우, 즉 유인반응을 나타내며, 반대로 1은 모든 시험 생물이 기피반응을 보인 것을 의미한다.

5.2 결과의 표시

5.2.1 살생물물질의 시험에 대해서는 농도별 기피율의 통계 분석을 통해 반수효능농도(ED₅₀)값, ED₉₀값 및 기울기 값 등을 계산하여 농도별 실제 시험결과와 함께 제출한다.

5.2.2 살생물제품의 실험실시험에 대해서는 제품의 기준농도, 1/2배 농도 및 2배 농도에서 진행한 시험결과를 원자료와 함께 제출한다.

기피제 - 실험실시험 - 비행흡혈곤충의

2021

숙주탐색저해시험방법

Repellent - Laboratory test -

Host-seeking Inhibition Test for Flying Blood-sucking Insects

1.0 개요

1.1 곤충독성학적 관점에서 기피효과는 크게 (1)평가 물질 자체에 대한 대상생물의 행동학적 회피 현상과 (2)단백질 공급원으로서의 숙주에 대한 흡혈 억제현상의 2가지로 구분될 수 있다.

1.2 본 시험방법은 숙주에 대한 탐색능력 억제효과를 평가하는 방법이다.

1.3 본 시험방법은 기본적으로 WHO에서 발행한 ‘Guidelines for Efficacy Testing of Spatial Repellent’를 따르고 있으며, 본 시험방법에서 논의되지 않은 사항은 해당 시험방법을 참조한다.

2.0 시험가능 살생물물질 유형

이 시험방법은 주로 살생물물질을 대상으로 하며, 살생물제품의 실험실시험에 사용이 가능하다.

3.0 대상생물

모기 등의 비행흡혈곤충을 대상으로 한다.

4.0 시험절차

4.1 시험기구

[주 1] 본 시험은 다양한 형태의 후각계(olfactometer)가 사용될 수 있다. 본 시험방법에서는 가장 일반적으로 사용되는 후각계인 Y-tube를 기준으로 시험방법을 설명한다.

4.1.1 중앙의 베이스는 아크릴 재질의 플라스틱으로 구성되어 있으며, 베이스에 연결된 2개의 가지에 도달하는 개체를 기준으로 효과를 판정한다.

4.1.2 Y-tube의 외경은 8.26 cm이며, 두께는 0.32 cm이다.

4.1.3 중앙의 베이스에 연결된 시험생물 투입부의 길이는 46 cm이며, 가지의 길이는 20 cm로 직각을 이룬다.

4.1.4 각 가지의 끝부분에는 메쉬가 부착되어 유인성분과 대상생물간의 직접적인 접촉이 차단되며, 선택을 종료한 대상생물의 이동을 제한하기 위한 메쉬로 된 문이 달린 포획구를 설치하며, 포획구의 길이는 10 cm 이다.

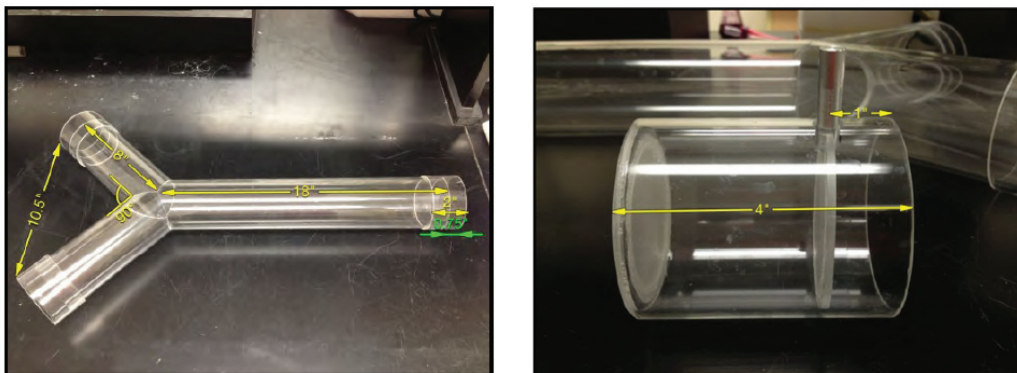


그림 2. Y-tube(좌), 포획구(우)의 형태 및 규격(WHO, 표시된 수치는 인치 단위임)

4.1.5 시험이 진행되는 동안, 시험 용기 내에서는 각 가지의 끝에서부터 시험 생물 투입부로 공기가 유입된다.

[주 2] 시험이 진행되는 온도, 습도 등의 환경조건을 일정하게 유지하도록 하며, 해당 정보를 기록한다.

4.2 시험물질

살생물물질은 에탄올, 아세톤 등과 같이 휘발성이 높은 용매에 녹여 사용한다.

4.3 시험방법

4.3.1 시험 시작 전 3가지의 예비시험을 진행하여 시험기구의 오염 등을 확인하여야 한다.

4.3.2 첫 번째 예비시험은 무처리 조건으로 시험을 진행하여 각 가지에 대한 유인효과가 10% 이하로 나타나는지를 확인하여야 한다.

4.3.3 두 번째 예비시험은 용매만을 이용한 예비시험을 진행하여 용매 자체의 유인효과가 10% 이하로 나타나는 것을 확인하여야 한다.

4.3.4 세 번째 예비시험은 유인물질만을 처리하여 양쪽의 가지에 대한 유사한 수준의 선택성이 나타남과 동시에 시험에 투입한 시험 생물이 50% 이상의 선택성을 가짐을 확인하여야 한다.

[주 3] 각 예비시험은 최소 3반복 이상 진행하도록 한다.

4.3.5 후드 내에 시험기구를 설치하고, Y-tube의 시험생물 투입부 쪽에 흡기장치를 연결한다.

4.3.6 흡기장치에는 풍속계를 연결하여 대조군과 처리군에 유입되는 공기의 유속은 0.20 ± 0.05 m/s로 유지하도록 한다. 이 때 시험생물 투입부의 유속은 0.40 ± 0.10 m/s 이다.

4.3.7 모기를 시험 대상으로 하는 경우 암컷 성충 10개체를 투입하여 15분간 깨끗한 공기를 투입하며 순화시킨다.

4.3.8 실제 시험은 시험군과 대조군에 시험용액 400 μ L를 유인물질과 함께 처리하고 맬브를 열어 시작하며, 노출시간은 시험물질의 종류 및 대상 생물에 따라 다양하게 적용하나 주로 30초 정도의 시간동안 시험 생물의 선택성을 관찰한다.

4.3.9 시험군에 도착한 개체수, 대조군을 선택한 개체수 및 선택성을 보이지 않은 개체수를 기록한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 전체 투입 개체수 대비 대조군 및 처리군의 개체수를 기록하여 유인효과를 판정한다.

$$\text{유인율(\%)} = \frac{\text{처리군의 개체수}}{\text{시험에 투입된 총 개체수}} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.2 결과의 표시

5.2.1 살생물물질의 시험에 대해서는 농도별 기피율의 probit 분석을 통해 반수효능농도(ED₅₀)값, ED₉₀값 및 기울기 값을 계산하여 농도별 실제 시험결과와 함께 제출한다.

5.2.2 살생물제품의 실험실시험에 대해서는 제품의 기준농도, 1/2배 농도 및 2배 농도에서 진행한 시험결과를 원자료와 함께 제출한다.

기피제 - 실험실시험 - 포복곤충의

2021

유인억제시험방법

Repellent - Laboratory test -

Attraction-Inhibition Test for Crawling Insects

1.0 개요

1.1 본 시험방법은 어리쌀바구미 등의 저장물해충을 대상으로 살생물물질의 기피효과를 평가하는 것으로, 곡물 등 유인물질이 있는 상황에서 살생물물질에 의해 대상생물의 유인효과 억제 정도를 확인하는 시험방법이다.

1.2 일반적인 기피효과의 스크리닝은 [유인제]와 [유인제+살생물물질] 간의 유인효과 차이를 관찰하는 선택적시험방법과 같은 시험설계도 가능하다.

1.3 하지만 실제 살생물제품의 사용행태를 기반으로 판단해 보았을 때 대상생물이 다른 쪽을 선택할 수 있도록 하는 것이 아닌 보호하고자 하는 곳에 대한 침투 억제 또는 쫓아내는 데에 그 목표가 있다.

1.4 따라서 저장물해충에 대한 살생물물질의 기피효과의 평가는 비 선택적 방법으로 수행하는 것이 더욱 바람직하다.

2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

이 시험방법은 살생물물질의 기피효과 평가에 적용한다. 추가로, 살생물제품에 대한 효과·효능 평가에는 적용하지 않는다.

3.0 대상생물

어리쌀바구미(*Sitophilus zeamais*)를 비롯한 저장물해충을 대상으로 한다.

4.0 시험 절차

4.1 유인시험기구

4.1.1 유인시험기구는 시험생물 투입부, 연결부 및 물질 처리용 유리관으로 구성된다.

4.1.2 지름 약 1~2 cm, 길이 약 10~15 cm의 유리 시험관에 유인물질(본 경우, 쌀을 사용)을 약 1~1.5 g 넣은 뒤 그 가장자리에 1×1 cm 정도 크기의 부직포 시편을 유인물질을 덮도록 올려놓는다.

[주 1] 상기 시험조건은 어리쌀바구미를 대상으로 진행하는 방식을 기재한 내용으로, 시험생물의 크기 및 이동성에 따라 용기의 크기를 달리할 수 있다.

4.1.3 연결부에 메쉬를 부착하여 처리공간 내에서 살생물물질의 위치별 농도구배가 일어날 수 있도록 한다.

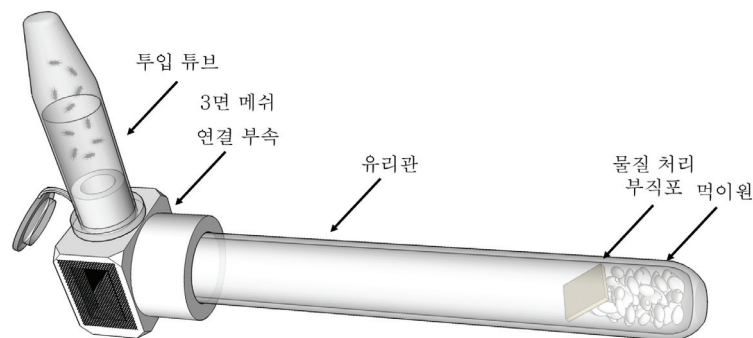


그림 3. 유인시험기구 모식도(상) 및 실제 조립사진(하)

4.2 시험물질

4.2.1 살생물물질은 에탄올, 아세톤 등과 같이 휘산성이 높은 용매에 녹여 사용하거나 액상의 경우 그대로 사용할 수 있다.

4.2.2 용매를 사용할 경우 용매에 의한 살충 및 기피효과가 발생하지 않음을 확인하여야 한다.

4.3 시험방법

4.3.1 손쉬운 개폐가 가능한 용기(1.5 mL 마이크로센트리퓨즈 튜브 등)에 어리쌀바구미 성충 10개체를 넣어 준비한다.

[주 2] 시험생물의 선택성을 증가시키기 위한 목적으로 시험생물을 6~24시간가량 굶긴 후 평가에 사용할 수 있다.

[주 3] 먹이만 공급했을 때 80% 이상의 시험생물이 먹이를 선택하는 시간 및 시험조건(투입하는 쌀의 양, 용기의 크기 및 사료배제 시간 등)을 예비시험을 통해 선정해야 한다. 보다 바람직하게는 90% 이상의 선택성을 보이는 조건을 기준으로 기피효과를 판정하도록 한다.

4.3.2 유리관에 용액이 닿지 않도록 주의하면서 부직포에 용매에 녹인 살생물물질을 처리한다.

4.3.3 용매가 휘산된 이후 시험생물이 탈출하지 못하나 공기의 확산은 가능하도록 메쉬 등을 부착한 부속을 유리관에 연결 한다.

4.3.4 미리 용기에 준비한 어리쌀바구미를 유리관 연결부속 내에 투입한다.

4.3.5 암조건 하에서 보관하며 1, 3, 24시간 경과 후 쌀과 살생물물질이 처리된 부직포가 들어있는 유리관에 진입한 개체수를 확인하여 기록한다.

4.3.6 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 살생물물질에 대한 시험생물의 유인억제율(기피율)은 하기의 식을 이용하여 계산하도록 한다.

$$\text{기피율(\%)} = \frac{(\text{시험에 투입한 총 개체수} - \text{유리관으로 이동한 개체수})}{\text{시험에 투입한 총 개체수}} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.1.2 살생물물질의 반수기피약량 계산을 위해서는 분산된 기피율 구간에서 4개 이상의 약량을 포함하여 probit 분석을 실시해야 한다(기피율 구간 예시; 5~30% 구간 내 농도 1개, 30~50% 구간 1개, 50~70% 구간 1개 및 70~95% 구간 내 1개 등).

5.2 결과의 표시

5.2.1 살생물물질의 시험에 대해서는 농도별 기피율의 probit 분석을 통해 반수기피약량(RD₅₀값), RD₉₀값 및 기울기 값을 계산하여 농도별 실제 시험 결과와 함께 제출한다.

5.2.2 반수기피약량은 부직포 단위면적당 처리한 약량(예: µg/cm², µL/cm²) 등으로 표현한다.

기피제 - 실험실시험 - 선택적 기피시험방법

2021

Repellent - Laboratory test -
Choice Repellent Test

1.0 개요

1.1.1 이 시험방법은 유인물질이 존재하지 않는 환경에서 살생물물질 및 살생물제품이 가진 고유의 기피효과를 평가하는 방법이다.

1.1.2 특히, 섭유가해해충의 경우 먹이 섭취량이 다른 곤충에 비해 상대적으로 많지 않기 때문에 유인물질에 대한 유인효과가 떨어지므로, 유인물질이 없는 환경에서의 기피효과를 평가하는 것이 더욱 일반적이다.

2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

2.1.1 저장물해충과 섭유가해해충을 대상으로 하는 살생물물질 혹은 살생물제품의 실험실 시험 단계에서의 기피효과를 평가하는 데 사용한다.

2.1.2 살생물제품의 경우 액상 등의 시료가 부직포 등의 담지체에 함침되어 휘산을 통해 기피효과를 발휘하는 제형을 가진 제품은 특별한 조작 없이 평가한다.

3.0 대상생물

어리쌀바구미(*Sitophilus zeamais*)를 비롯한 저장물해충 및 먼지다듬이(*Liposcelis* spp.), 좁(*Ctenolepisma* spp.) 등의 섭유가해해충.

4.0 시험절차

4.1 살생물물질에 대한 선택적 시험기구

4.1.1 시험기구는 처리군 및 대조군 여지를 부착할 수 있는 처리부와 시험생물의 반응을 확인하는 관찰부로 구성된다.

4.1.2 처리부는 지름 50 mm의 여지 등 시험에 사용되는 여지 전체를 투입할 수 있는 크기의 용기를 선택한다.

[주 1] 바닥을 아크릴이나 유리 등의 미끄러운 재질로 제작한 경우 시험생물의 이동에 방해가 될 수 있으며, 시험생물의 이동에 제약이 있는 경우 종이 등 마찰력이 있는 재질로 된 바닥을 제공하도록 한다.

[주 2] 시험용기 선택에 있어, 간혹 시험생물이 시험물질에 대한 기피현상을 보이며 용기 벽면을 타고 올라가는 현상이 발생할 수 있는데, 이 경우에도 대상물질의 효력을 제대로 판정할 수 없기 때문에 기어오르기 어려운 재질의 용기를 선택하거나 물리적 방법으로 이를 억제할 수 있도록 한다.

4.1.3 관찰부는 시험생물의 행동이 제약받지 않는 충분한 크기로 제작하며, 약 20~30 cm 정도의 길이로 된 관찰창을 부착한다.

4.1.4 평가에 사용되는 시험생물이 빛에 민감하게 반응하는 경우 관찰창 위에 덮개를 부착하여 빛의 유입을 차단할 수 있도록 한다.

4.1.5 관찰부의 중앙에는 흡기 팬(fan)을 설치하여 처리군 및 대조군으로부터 휘산된 기체가 중앙에 모여 빠져나갈 수 있도록 하며, 시험공간 내 공기의 흐름 등을 관찰하여 팬의 속도를 조절한다.

[주 3] 처리군과 대조군 양쪽에서 흡기되는 공기의 양이 동일하도록 유지하여야 하며, 페트리디쉬가 부착된 관찰부의 부분에 틈이 없도록 유의한다.

4.1.6 흡기 팬의 작동에 의해 처리군-흡기 팬 사이에는 시험물질이 존재하며, 흡기팬-처리군 사이에는 시험물질이 존재하지 않는다.

4.1.7 공기의 원활한 흐름을 위해 페트리디쉬의 하부에도 흡기를 위한 구멍을 만들어 주며, 구멍의 개수 및 면적은 팬의 흡기 속도 등을 고려하여 적절하게 조절하도록 한다.

4.2 살생물제품에 대한 선택적 시험기구

4.2.1 살생물제품에 대한 선택적 시험기구는 살생물물질에 대한 선택적 시험기구와 구성방식은 동일하다.

4.2.2 제품투입부와 관찰부 사이에는 메쉬 등으로 된 격벽을 설치하여 제품 자체에 시험생물이 접촉하지 못하도록 한다.

4.2.3 제품투입부는 평가 대상 제품 전체를 포함할 수 있는 크기로 준비한다.

4.2.4 관찰부는 시험생물의 행동이 제약받지 않는 충분한 크기로 제작하며, 약 20~30 cm 정도의 길이로 된 용기를 사용한다.

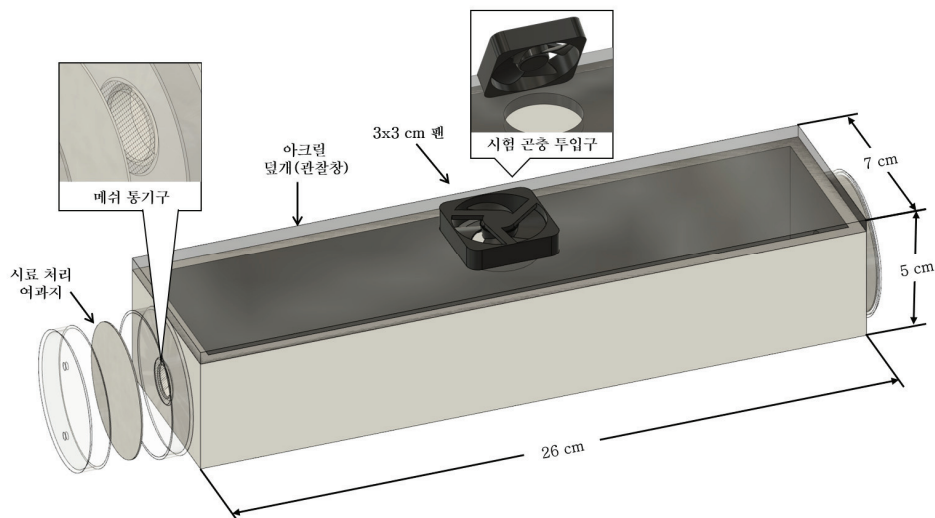


그림 4. 살생물물질에 대한 선택적 기피시험기구의 예시

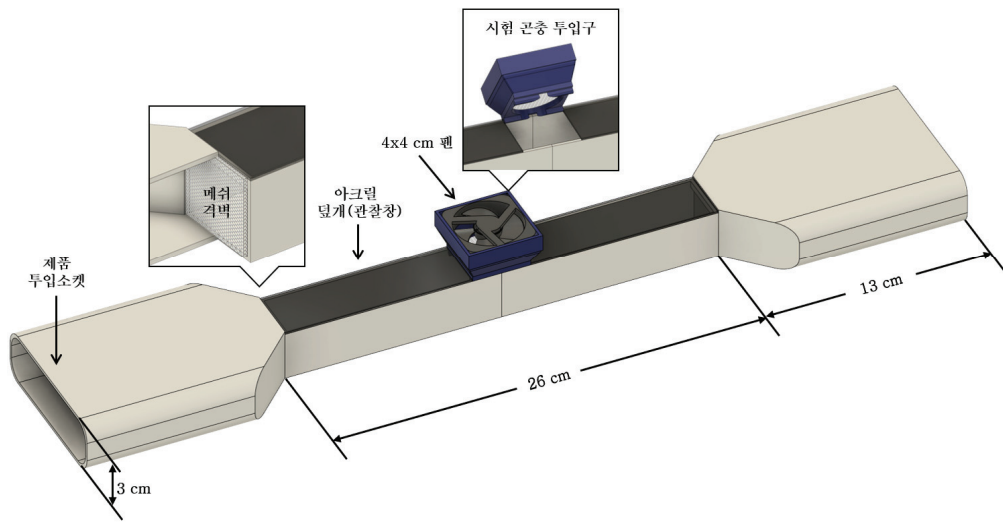


그림 5. 살생물제품에 대한 선택적 기피시험기구의 예시

4.3 시험물질

4.3.1 살생물물질은 에탄올, 아세톤 등과 같이 휘산성이 높은 용매에 녹여 사용하거나 액상의 경우 그대로 사용할 수 있다. 용매를 사용할 경우 용매에 의한 살충 및 기피효과가 발생하지 않음을 확인하여야 한다.

4.3.2 반제품 혹은 완제품 형태의 살생물제품에 대한 시험의 경우에는 용매를 사용하지 않고 그대로 처리한다.

4.4 시험방법

4.4.1 시험의 시작 전 시험공간 내부에 시험생물 10~30개체를 방사하고, 시험공간 내부에서 자유롭게 이동하며 적응할 수 있도록 약 30분~1시간 정도 방치한 이후 시험을 실시하도록 한다.

[주 4] 시험 완료 후 시험용기 내부에 시험물질이 남아있지 않도록 충분히 세척하여야 하며, 시험 시작 전 시험생물의 행동을 관찰하여 양쪽에 균등하게 분포하는지를 확인하여야 한다.

4.4.2 살생물물질의 기피효과를 평가하기 위해서는 용매에 녹인 살생물물질을 여지에 처리한다.

4.4.3 시험에 사용한 용매를 다른 여지에 처리하여 대조구로 사용한다.

4.4.4 살생물제품에 대해서는 개봉한 제품을 그대로 사용하며, 대조구는 무처리한다.

4.4.5 용매가 완전히 휘산된 이후, 처리군 및 대조군 여지를 뚜껑에 메쉬로 된 구멍이 있는 페트리디쉬에 투입하고 뚜껑과 바닥면을 파라핀 필름 등으로 접착하여 관찰부에 부착한다.

4.4.6 10분 간격으로 60분까지 시험생물의 살생물제에 대한 반응을 관찰하며, 최종적으로 60분 이후 각 처리군 및 대조군에 위치한 시험생물의 개체수를 기록한다.

4.4.7 예비시험을 통해 살생물제에 대한 반응도 또는 광 민감성이 확인된 경우 관찰시간 및 간격을 조정할 수 있다.

4.4.8 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

4.4.9 평가에 사용된 시험생물은 시험물질에 대한 적응성(habituatation) 등이 발생할 수 있으므로, 재사용하지 않고 즉시 폐기하도록 한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

기피율의 계산은 하기의 식을 이용한다.

$$\text{기피율}(\%) = \frac{(\text{대조군의 개체수} - \text{시험군의 개체수})}{(\text{대조군의 개체수} + \text{시험군의 개체수})} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.2 결과의 표시

5.2.1 살생물물질의 시험에 대해서는 약량별 기피율의 probit 분석을 통해 반수기피약량(RD₅₀값), RD₉₀값 및 기울기 값 등을 계산하여 약량별 실제 시험 결과와 함께 제출한다.

5.2.2 살생물물질의 선택적 기피시험방법에서 반수기피약량은 단위면적당 처리한 약량으로 표현한다(예: mg/cm² 등).

5.2.3 살생물제품의 시험에 대해서는 관찰지점에서의 기피율 결과를 보고한다.

5.2.4 해당 방식으로 시험을 진행하였을 때, 평가제품이 주장하는 사용 기간을 기준으로 제품의 개봉 시점, 50% 및 90% 사용 완료 시점에서의 기피율을 제시한다.

기피제 - 실험실시험 - 비선택적 기피시험방법

2021

Repellent - Laboratory test -
Non-choice Repellent Test

1.0 개요

1.1.1 본 시험방법은 섬유를 가해하거나 옷장, 서랍장과 같은 가구 주변에서 발견되는
좀류, 먼지다듬이류 등의 섬유가해해충을 대상으로 살생물물질의 기피효과를 평가하는
시험이다.

1.1.2 다수의 섬유가해해충은 셀룰로오스 등의 다당류를 먹이원으로 삼고 있으나, 다른
해충에 비해 먹이원에 대한 유인반응이 높지 않은 편이므로 유인물질에 대한 차단효과
를 평가하기에는 다소 어려움이 있다.

1.1.3 이에 본 시험방법에서는 유인물질을 포함하지 않은 상황에서 살생물물질 자체의
섬유가해해충에 대한 기피효과를 평가하는 방법을 다룬다.

2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

섬유가해해충에 기피효과를 가진 살생물물질을 대상으로 한다.

3.0 대상생물

먼지다듬이류(*Liposcelis* spp.) 및 좀류(*Ctenolepisma* sp.) 등의 섬유가해해충

4.0 시험절차

4.1 시험물질

4.1.1 살생물물질은 에탄올, 아세톤 등과 같이 휘산성이 높은 용매에 녹여 사용하거나 액상의 경우 그대로 사용할 수 있다.

4.1.2 용매를 사용할 경우 용매에 의한 살충 및 기피효과가 발생하지 않음을 확인하여야 한다.

4.2 시험방법

4.2.1 시험을 시행하는 공간에 공기의 흐름이 있는 경우 여지에 처리된 시험물질의 공기 중 농도 구배에 영향을 줄 수 있으므로, 공기의 흐름이 없는 환경에서 시행한다.

4.2.2 시험용 여지가 들어갈 수 있는 지름 10 cm 이상의 유리샬레 혹은 길이 10 cm 이상의 유리판을 준비한다.

4.2.3 지름 9 cm 여지(필터 페이퍼) 중심부에 지름 4.5 cm 크기로 동심원을 절제하고, 도넛 형태의 테두리부(살생물물질 처리부위)와 중심원부(용매 처리부위)로 분리하여 시험용 여지를 준비한다.

4.2.4 시험생물의 행동이 매우 빠른 경우 등에 있어서는 시험공간의 크기를 증가시킬 수 있으나, 지름이 최대 20 cm가 넘지 않도록 하며, 시험생물 방사부의 지름은 전체 처리군의 1/2 이상이 되어야 한다.

4.2.5 아세톤 등의 휘발성 용매를 이용해 2배 내외의 비율을 가진 4~8단계의 시험용액을 조제한다.

4.2.6 준비한 시험용액을 여지 테두리부에 균일하게 처리한다. 중심원부에는 단위면적당 동일한 양의 용매를 균일하게 처리한다.

4.2.7 용매가 완전히 휘산된 것을 확인하고, 즉시 절제했던 중심원부를 원래의 위치에 부착시킨다.

4.2.8 중심원부에 시험생물의 이동속도 등을 고려하여 5~10개체를 투입한다.

4.2.9 시험생물을 투입한 이후 5분간 시험생물의 행동을 관찰하여 살생물물질 처리지역으로의 이동 여부를 판정한다.

4.2.10 시험생물이 5분 이내에 살생물물질 처리지역으로 이동한 경우 [기피하지 않음]으로 판정하고, 5분 동안 중심원 내부에만 머무는 경우 [기피함]으로 판정한다.

4.2.11 처리군 내에서 2개체가 시험물질 처리지역으로 연달아 이동한 경우 2번째 개체가 시험물질 처리지역으로 이동한 시간을 기록하고 이를 CPT(Complete Protection Time)로 판정한다.

4.2.12 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

4.2.13 평가에 사용된 시험생물은 시험물질에 대한 적응성(habituation) 등이 발생할 수 있으므로, 재사용하지 않고 즉시 폐기하도록 한다.

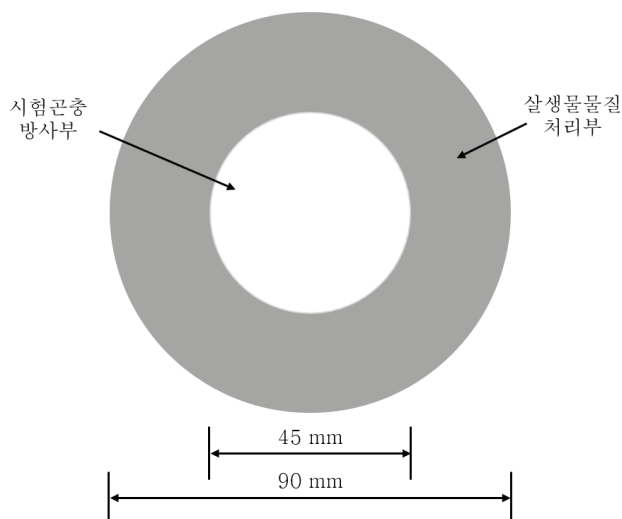


그림 6. 비선택적 기피시험방법에 사용된 여지 예시

5.0 결과보고

5.1 계산

기피율의 계산은 하기의 식을 이용한다.

$$\text{기피율(\%)} = \frac{(\text{시험에 투입한 총 개체수} - \text{시험구의 개체수})}{\text{시험에 투입한 총 개체수}} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.2 결과의 표시

5.2.1 시험결과는 처리구당 처리농도, 90% 기피율을 유지하는 시간, 판정된 CPT 시간, 1분간의 기피율(%), 5분간의 기피율(%)을 기록한다.

5.2.2 해당 결과는 농도별 실제 시험 결과와 함께 제출한다.

기피제 - 모의사용시험 - 비행흡혈곤충의 공간기피시험방법

2021

Repellent - Simulated-use test -
Spatial Repellency for Flying Blood-sucking Insects

1.0 개요

1.1 곤충독성학적 관점에서 기피효과는 크게 (1)평가 물질 자체에 대한 대상생물의 행동학적 회피 현상과 (2)단백질 공급원으로서의 숙주에 대한 흡혈 억제현상의 2가지로 구분될 수 있다.

1.2 본 시험방법은 숙주에 대한 탐색능력 억제효과를 가지는 살생물제품을 평가하는 방법이다.

2.0 시험가능 살생물물질 유형

이 시험방법은 비행흡혈곤충에 대해 공간에 대한 기피효과를 발휘하는 살생물제품의 효과를 평가할 때 사용한다.

3.0 대상생물

모기 등의 비행흡혈곤충을 대상으로 한다.

4.0 시험절차

4.1 시험기구

4.1.1 본 시험방법에는 비행곤충이 자유롭게 움직이는 시험장 및 탐색능력 억제 정도

를 평가하는 유인시험장치로 구성된다.

4.1.2 시험장은 가로×세로×높이가 2 × 2 × 2 m인 모기장이며, 시험장에는 어떠한 물질도 처리되지 않아야 한다.

4.1.3 유인시험장치(50 × 25 × 25 cm)는 아크릴 등의 재질로 구성하여 장치 내 대상생물의 이동을 직접적으로 관찰할 수 있도록 한다.

4.1.4 유인시험장치의 한쪽 공간(A)에는 시험물질(유인원, 살생물제품)을 투입하며, 팬을 부착하여 시험물질을 공기중으로 확산시킬 수 있도록 하한다.

4.1.5 장치의 반대쪽 공간(B)에는 입구를 고깔 형태로 만들어 탈출을 막도록 한다.

4.1.6 유인시험장치 중간에는 메쉬로 된 격벽을 설치하여 유인원(그림의 경우 쥐)과 대상생물의 직접적인 접촉을 차단한다.

4.1.7 필요에 따라 A, B가 분리될 수 있도록 하며, 모의사용시험용 시험장치의 크기는 상황에 따라 조절이 가능하다.

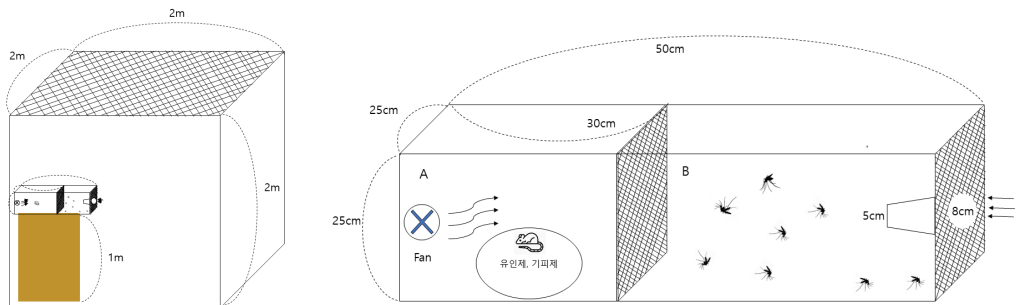


그림 7. 비행흡혈곤충의 공간기피시험 장치(좌) 및 유인시험장치의 확대도(우)

4.2 시험물질

4.2.1 본 시험방법은 제품의 사용에 따른 비행흡혈곤충의 먹이탐색능력의 저해 정도를 평가하는 것이므로, 적절한 종류 및 함량의 유인원 선정이 필수적이다.

4.2.2 비행흡혈곤충에 대해서는 일반적으로 젖산, 드라이아이스 등을 유인원으로 사용할 수 있으며, 실험용 쥐 등의 동물 자체를 이용하는 것도 가능하다.

[주 1] 단, 동물을 유인원으로 직접 사용하는 경우에는 동물보호법 및 실험동물에 관한 법률에 의거하여 동물실험윤리위원회의 승인을 득하여 시험을 진행하도록 하며, 위원회 승인번호 및 승인결정문을 결과보고서와 함께 제출하여야 한다.

4.2.3 본 시험에서는 살생물제품을 별도의 조작 없이 그대로 사용한다.

4.3 시험방법

4.3.1 시험 시작 최소 12시간 전부터 시험장 내에 대상생물을 방사하여 새로운 공간에 충분한 순응을 할 수 있도록 한다.

[주 2] 순응하는 동안은 설탕물 등의 먹이 공급을 제한하여 유인 반응을 높이도록 한다.

[주 3] 모기의 경우 200개체의 암컷을 방사한다.

4.3.2 시험장 안에 유인시험장치를 약 1미터 높이에 설치한다.

4.3.3 유인시험장치에 부착된 팬을 가동하고 30분, 60분, 120분, 240분 및 360분 경과 시점에서 유인시험장치 내로 들어온 개체를 확인한다.

[주 4] 본 시험 전에 항상 대조군 시험을 선행하여 진행한다. 대조군 시험을 진행하여 2시간 안에 유인시험장치 내로 20% 이상의 개체가 유인되지 않는다면 시험환경, 시험 모기를 다시 준비하도록 한다.

[주 5] 대상생물 종의 흡혈 활동이 왕성한 시간대에 시험을 수행하고 흡혈 활동 시간이 짧은 경우, 이 시간을 감안하여 본 시험을 수행한다.

[주 6] 시험에 영향을 주지 않기 위해 시험자는 동선을 최소한으로 한다.

[주 7] 팬의 풍속으로 인해 모기의 접근이 용이하지 못할 경우 팬을 조정하도록 한다.

4.3.4 시험이 종료되면 시험장소를 환기시키며 유인시험장치를 70% 에탄올 등을 이용하여 세척한다.

4.3.5 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 시험 기간 및 약량에 대한 기피제의 기피효과는 다음과 같이 계산한다.

5.1.2 기피효과(P)는 유인 검정 장치에 들어온 모기의 수(C) 및 공간형 기피제를 처리 시 유인시험장치에 침입한 모기의 수(T)를 비율로 표현한다.

$$\text{기피율(\%)} = \frac{(\text{음성대조군의 침입 개체수} - \text{시험군의 침입 개체수})}{\text{음성대조군의 침입 개체수}} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.2 결과의 표시

5.2.1 시험 결과는 관찰 시간에 따른 기피율을 기록하며, 대조군 및 시험군의 원자료와 함께 제출한다.

5.2.2 평가제품이 장기간동안 효능을 나타내는 제품인 경우 사용 기간을 기준으로 제품의 개봉 시점, 50% 및 90% 사용 완료 시점에서의 기피율을 평가한다.

기피제 - 모의사용시험 - 저장물해충의 유인억제시험방법

2021

Repellent - Simulated-use test -
Attraction-Inhibition Test for Stored Product Insect Pests

1.0 개요

1.1.1 본 시험방법은 쌀 등의 곡물을 보관하는 용기에 투입하여 저장용기 내부로 저장물해충이 유인되는 것을 억제하거나 곡물 내부의 저장물해충 제거하는 목적을 가진 방제제 제품의 기피효과를 평가하는 방법에 대한 것이다.

1.1.2 제품에 대한 유인억제 기피 시험에서는 제품의 실사용 조건을 가정하여, 곡물 저장용기 외부에 존재하고 있는 저장물해충에 대한 곡물 저장용기로의 침입을 억제하는 효과를 평가한다.

2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

액상 및 고상의 내용물이 휘산용기에 포함되어 주성분이 휘산되며 약효를 발휘하는 증산형 살생물제품 등을 대상으로 한다.

3.0 대상생물

어리쌀바구미(*Sitophilus zeamais*)를 비롯한 저장물해충

4.0 시험절차

4.1 시험물질

본 시험에서는 살생물제품을 별도의 조작 없이 그대로 사용한다.

4.2 시험방법

4.2.1 최소 15 L 이상의 부피를 가진 직사각형 형태의 시험용기를 준비하고, 그림과 같이 용기 바닥 측면에 지름 10 cm로 타공한다.

4.2.2 시험생물의 탈출을 방지하기 위해 시험용기의 안쪽 벽면을 테프론 (polytetrafluoroethylene preparation 60 wt % dispersion in H₂O) 등과 같은 탈출방지제로 코팅한다.

4.2.3 약 1 kg의 곡물을 넣은 별도의 용기를 준비하여, 타공한 구멍에 부착한다. 이때 곡물 용기의 높이는 시험용기보다 낮아야 하며, 곡물 용기에 투입된 곡물의 높이가 시험용기의 바닥면과 동일하도록 조정한다.

4.2.4 평가하고자 하는 제품을 곡물 위 혹은 곡물이 위치한 주변에 배치하고, 어리쌀바구미 100 개체를 처리군의 반대편에 방사한다.

[주 1] 시험생물의 선택성을 증가시키기 위한 목적으로 시험생물을 6~24시간가량 굶긴 후 평가에 사용할 수 있다.

4.2.5 시험물질이 용기에 남아있는 경우 등으로 인해 시험생물이 기피반응을 보인다면 즉시 시험을 중단하고 용기의 세척을 진행한다.

4.2.6 어리쌀바구미 등 빛에 대한 회피반응을 가진 곤충을 시험생물로 사용하는 경우, 빛의 차단을 위한 가림막을 설치한 이후 시험을 진행하도록 한다. 평가 용기 내부의 습도가 너무 높은 경우에는 곰팡이 등의 미생물이 발생할 수 있으므로 유의한다.

4.2.7 시험 시작 24시간 이후 곡물 용기 내부로 침입한 시험생물의 개체수를 기록하여 기피효과를 판정한다.

그림 2. Y-tube(좌), 포획구(우)의 형태 및 규격(WHO, 표시된 수치는

5.0 결과보고



그림 8. 유인억제시험 공간 모식도(상) 및 실제 조립사진(하)

5.1 계산

기피율의 계산은 하기의 식을 이용한다.

$$\text{기피율(\%)} = \frac{(\text{시험에 투입한 총 개체수} - \text{시험구의 개체수})}{\text{시험에 투입한 총 개체수}} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.2 결과의 표시

5.2.1 시험 결과는 관찰시점에서의 최종 기피율을 기록한다.

5.2.2 해당 방식으로 시험을 진행하였을 때, 평가제품이 주장하는 사용 기간을 기준으로 제품의 개봉 시점, 50% 및 90% 사용 완료 시점에서의 기피율을 제시한다.

기피제 - 모의사용시험 - 섬유가해해충의 선택적 기피시험방법

2021

Repellent - Simulated-use test -
Choice Repellent Test for Fabric-attacking Insect Pests

1.0 개요

본 시험방법은 섬유를 가해하거나 옷장, 서랍장과 같은 가구 주변에서 발견되는 좀류, 먼지다듬이류 등의 섬유가해해충을 방제하는 목적을 가진 제품의 기피효과를 평가하는 방법이다.

2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

살생물물질을 부직포 등에 함침시킨 형태 혹은 원료 자체를 타정하여 만든 형태의 제형을 가진 살생물제품을 대상으로 한다.

3.0 대상생물

이 시험방법은 먼지다듬이류(*Liposcelis* spp.) 및 좀류(*Ctenolepisma* spp.) 등의 섬유가해해충.

4.0 시험절차

4.1 시험기구

4.1.1 제품이 목적하는 표준 사용 공간 크기의 시험용기를 대상으로 시험을 진행한다.

4.1.2 시중에 유통되는 제품을 대상으로 하였을 때, 옷장용 기피제는 500 L 옷장 1개당

1~2개, 서랍장용 기피제는 50 L 서랍장 1개당 1~2개의 제품을 사용하도록 권고하고 있으므로, 옷장용 제품은 250 L, 서랍장용 제품은 25 L 크기의 시험공간에서 평가를 진행한다.

4.1.3 각 시험상자의 크기는 적절하게 조절할 수 있으나, 서랍장용 제품 시험을 위한 상자의 크기는 내경 기준 가로×세로×높이=20 × 20 × 20 cm로 하고, 연결부는 가로×세로×높이=10 × 10 × 10 cm로 설정하는 것이 적당하며(상자 부피 각 8L, 연결부 부피 각 1 L, 총 26 L), 옷장용 제품의 평가를 위한 상자는 가로×세로×높이=35 × 35 × 66.3 cm, 연결부는 가로×세로×높이=15 × 15 × 15 cm의 크기가 적당하다(상자 부피 각 81.2 L, 연결부 부피 각 3.4 L, 총 250.4 L).

4.1.4 시험용기는 아크릴 등으로 제작된 3개의 육면체 상자를 2개의 연결부를 이용해 바닥면을 연결한 형태이다.

[주 1] 바닥을 아크릴이나 유리 등의 미끄러운 재질로 제작한 경우 시험생물의 이동에 방해가 될 수 있으며, 시험생물의 이동에 제약이 있는 경우 종이 등 마찰력이 있는 재질로 된 바닥을 제공하도록 한다.

4.1.5 중앙 상자의 상단에는 흡기 팬(fan)을 설치하여 처리군 및 대조군로부터 휘산된 기체가 중앙에 모여 빠져나갈 수 있도록 하며, 시험공간 내 공기의 흐름 등을 관찰하여 팬의 속도를 조절한다.

4.1.6 흡기 팬의 작동에 의해 처리군-흡기 팬 사이에는 시험물질이 존재하며, 흡기팬-대조군 사이에는 시험물질이 존재하지 않는다.

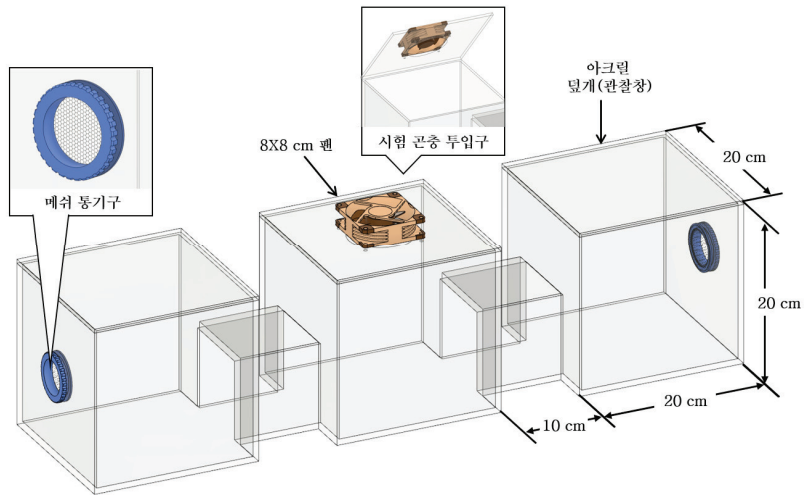


그림 9. 서랍장용 제품 기피효과 시험을 위한 시험기구 도면의 예시

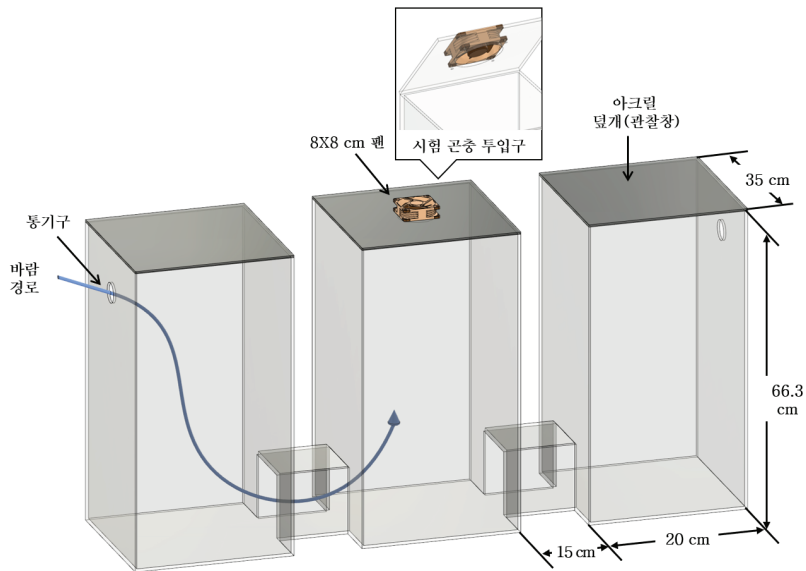


그림 10. 옷장용 제품 기피효과 시험을 위한 시험기구 도면의 예시

4.2 시험물질

본 시험에서는 살생물제품을 별도의 조작 없이 그대로 사용한다.

4.3 시험방법

4.3.1 시험생물 10개체를 중앙의 시험생물 투입구를 통해 시험공간 내로 투입하여 준비하고, 시험생물들이 적응할 수 있도록 30분~1시간 동안 방치한다.

4.3.2 시험을 진행하기에 앞서 시험생물이 한쪽으로 몰리는 현상 등이 관찰되는 경우, 이전 시험의 시료가 용기 내부에 잔류하고 있을 가능성이 있으므로 즉시 시험을 중단하고 용기의 세척을 진행한다.

4.3.3 시험생물이 처리군과 대조군에 균등분포하는 것을 확인한 이후, 처리군 상자에 평가 대상 제품을 투입하고 흡기 팬을 가동한다.

4.3.4 시험 시작 직후 매 10분간 시험생물의 반응을 기록하며, 시험 시작 후 1시간 이후 각 상자의 시험생물 개체수를 확인한다.

4.3.5 평가제품이 수 개월간의 장기사용을 목적으로 하는 제품인 경우, 실생활 조건에서 제품을 개봉하여 휘산을 진행하고, 제품의 개봉초기, 사용종료 50% 지점 및 사용종료 90% 지점에서 동일한 방식으로 시험을 진행하여 휘산 기간에 따른 효력 유지 정도를 평가한다.

4.3.6 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

5.0 결과보고

5.1 계산

5.1.1 기피율의 계산은 하기의 식을 이용한다.

$$\text{기피율(\%)} = \frac{(\text{시험에 투입한 총 개체수} - \text{시험구의 개체수})}{\text{시험에 투입한 총 개체수}} \times 100 \quad (\text{식 1})$$

5.1.2 대조구의 치사율이 20%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해

활력이 떨어지거나, 시험방법(용매의 휘산 시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관방법(적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.2 결과의 표시

5.2.1 시험 결과는 관찰시점에서의 최종 기피율을 기록한다.

5.2.2 해당 방식으로 시험을 진행하였을 때, 평가제품이 주장하는 사용 기간을 기준으로 제품의 개봉 시점, 50% 및 90% 사용 완료 시점에서의 기피율을 제시한다.

살생물제 효과·효능 시험방법 자료집 - 구제제류

인 쇠 | 2021년 12월
발 행 | 2021년 12월
펴 낸 이 | 국립환경과학원 환경건강연구부 화학물질연구과
주 소 | 인천광역시 서구 환경로 42(경서동 종합환경연구단지내)
전 화 | 1800-4840
팩 스 | 032-568-2037
I S B N | 11-1480523-004404-01
