

발 간 등 록 번 호

11-1480523-004922-01

NIER-GP2022-176

# 살생물제

효과·효능 시험방법 자료집 -구제제류

2022. 12





## .. 문서 이력 ..

번호	주요 제·개정사항	일자
1.	<ul style="list-style-type: none"><li>• 살생물제 효과·효능 시험방법 자료집 -구제제류</li><li>• 발간등록번호: 11-1480523-004404-01</li><li>• N I E R 번 호: NIER-GP2021-024</li></ul>	2021. 6
2.	<ul style="list-style-type: none"><li>• 살생물제 효과·효능 시험방법 자료집 -구제제류</li><li>• 발간등록번호: 11-1480523-004922-01</li><li>• N I E R 번 호: NIER-GP2021-023</li></ul>	2022. 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

살생물제 효과·효능 시험방법 자료집 -구제제류

## 1부 · 총칙

총칙 .....	1
살생물제품의 잔류효과 시험기준(NIER-BP-E5-002) .....	15

## 2부 · 살충제

모기(NIER-BP-E5-010) .....	21
바퀴벌레(NIER-BP-E5-011) .....	24
파리(NIER-BP-E5-012) .....	27
개미(NIER-BP-E5-013) .....	29
흰개미(NIER-BP-E5-014) .....	32
포복흡혈곤충(NIER-BP-E5-015) .....	35
벌(NIER-BP-E5-016) .....	37
저장물해충(NIER-BP-E5-017) .....	39
섬유가해해충(NIER-BP-E5-018) .....	41
실험실시험 - 미량국소처리시험방법(NIER-BP-E5-100) .....	43
접촉시험방법(NIER-BP-E5-101) .....	47
훈증시험방법(NIER-BP-E5-102) .....	58
직접분사시험방법(NIER-BP-E5-104) .....	67
공간분사시험방법(NIER-BP-E5-105) .....	74
수중처리시험방법(NIER-BP-E5-106) .....	81
가열증산시험방법(NIER-BP-E5-107) .....	91
독먹이시험방법(NIER-BP-E5-108) .....	99
흰개미의 독먹이시험방법(NIER-BP-E5-109) .....	109
흰개미의 토양처리시험방법(NIER-BP-E5-110) .....	115

## 3부 · 살서제

설치류의 독먹이 시험방법(NIER-BP-E5-401) .....	121
-------------------------------------	-----

# 1부

## 총칙

총칙

살생물제품의 잔류효과 시험기준  
(NIER-BP-E5-002)



## 구제제류 - 총칙

2022

## 1.0 개요

### 1.1 목적

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

### 1.2 적용범위

구제제류의 효과·효능은 표적생물체에 대한 살충/기피/유인 등의 구제 작용으로, 살생물제의 용도에 따라 대표 표적생물체 및 시험대상생물체를 결정하고, 제품의 적용방식에 따라 적합한 시험방법을 선택하여야 한다.

## 2.0 관련 용어

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

**2.2 포복곤충(Crawling insect)** : 주로 육상에서의 포복을 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 내성(저항성, Resistance)** : 살충제에 대한 내성이라고 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 살충/기피 등의 영향 또는 작용을 받기 쉬운 상태를 말한다. 살충제에 감수성이 있다고 하는 것은 그 살충제가 잘 작용한다는 것 또는 그 정도를 말한다.

**2.12 교차내성(Cross resistance)** : 하나의 살충제에 대해 어느 개체군이 내성을 획득하였을 때, 그 집단이 다른 살충제에 대해서도 내성을 나타내는 현상을 의미한다.

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

**2.14  $KT_{50}$ (반수녹다운시간, Median knockdown time)** : 시험생물 개체군의 50%가 녹다운 되는데 소요되는 시간으로, 시험물질의 속효성을 평가하는 지표이다.

**2.15 LT<sub>50</sub>(반수치사시간, Median lethal time)** : 시험생물 개체군의 50%가 치사하는데 소요되는 시간으로, 시험물질의 속효성을 평가하는 지표이다.

**2.16 LD<sub>50</sub>(반수치사량, 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 LC<sub>50</sub>(반수치사농도, Median lethal concentration)** : 50% 치사농도라고도 표기할 수 있다. 시험생물 개체군의 50%를 치사시킬 수 있는 시험물질의 농도(예: mg/L)를 말한다.

**2.18 IE<sub>50</sub>(반수저해농도, Median inhibition of adult emergence)** : 시험생물 개체군의 우화율을 50% 저해할 수 있는 시험물질의 농도(예: mg/L)를 말한다.

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

**2.20 지효성(Slow action)** : 속효성에 대비되는 용어로 시험생물의 비행능력이나 보행능력을 잃게 하는 작용의 발현시간이 느린 것을 의미한다.

**2.21 잔효성/잔류성(Residual action)** : 살생물제를 처리하였을 때 효력이 장기간에 걸쳐 지속하는 것이다.

**2.22 우화(Adult emergence)** : 곤충의 번데기나 유충이 성충이 되는 것이다.

**2.23 치사(Mortality)** : 전혀 움직임이 없는 상태로 자극을 가해도 생명 활동이 보이지 않는 것을 의미한다. 자극을 주었을 때 반응을 보이더라도 제대로 된 보폭이나 비행이 불가능하고 구기 혹은 부속지에 약간의 반응이 있는 정도는 치사 개체로 간주할 수 있으나, 해당 개체를 골라 깨끗한 용기에 옮겨 동일한 환경조건에서 추가로 24시간 동안 관찰하여 독성 반응에서 회복하지 못하는 것을 확인하여야 한다.

**2.24 표적생물체(Target organism):** 살생물물질/살생물제품의 기능은 유해생물에 대한 제어 작용(살충, 기피, 유인 등)으로 표적생물체는 제어대상이 되는 생물체를 말한다.

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

**2.26 시험대상생물체(Testing organism):** 시험대상생물체는 효과·효능 시험을 실제 시험하는 대상생물체이다.

### 3.0 살충제류 효과·효능 평가를 위한 대표 표적생물체

표적생물체에 대해 살생물제품의 효과·효능을 주장하기 위해서는 적절한 대표 표적생물체를 선택하여 시험해야 한다. 살충제류 효과·효능 평가를 위한 대표 표적생물체는 표 1과 같다. 아래 명시한 대표 표적생물체 이외의 생물체에 대한 시험은 해당 제품의 사용 용도에 대한 대상 생물체의 연관성을 인정할 수 있는 과학적 근거가 뒷받침된 경우에 한하여 인정될 수 있다.

표 1. 대상생물체별 대표 표적생물체 구분

용도 및 표시사항	표적생물체	대표 표적생물체
모기	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 집모기속 Genus <i>Culex</i> 작은빨간집모기(<i>Culex tritaeniorhynchus</i>) 빨간집모기군(<i>Culex pipiens complex</i>)</li> <li>- 숲모기속 Genus <i>Aedes</i> 금빛숲모기(<i>Aedes vexans nipponii</i>) 흰줄숲모기(<i>Aedes albopictus</i>)</li> <li>- 얼룩날개모기속 Genus <i>Anopheles</i></li> </ul>	<p>‘모기’의 방제를 제품라벨에서 주장하고자하는 경우</p> <p><b>집모기속</b> 모기 1종, <b>숲모기속</b> 모기 1종, <b>총 2종</b>에 대한 평가를 모두 완료하여야 한다.</p>
바퀴벌레	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 바퀴과 Family Blattellidae <b>독일바퀴(<i>Blattella germanica</i>)</b></li> <li>- 왕바퀴과 Family Blattidae <b>집바퀴(일본바퀴, <i>Periplaneta japonica</i>)</b> 떡바퀴(<i>Periplaneta fuliginosa</i>) 이질바퀴(미국바퀴, <i>Periplaneta americana</i>)</li> </ul>	<p>‘바퀴벌레’의 방제를 제품라벨에서 주장하고자하는 경우 <b>독일바퀴</b> 또는 <b>집바퀴 중 1종</b>에 대한 평가를 완료하여야 한다.</p>

파리	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 집파리과 Family Muscidae <b>집파리(<i>Musca domestica</i>)</b></li> <li>- 나방파리과 Family Psychodidae 나방파리(<i>Tinearia alternata</i>)</li> <li>- 초파리과 Family Drosophilidae 노랑초파리(<i>Drosophila melanogaster</i>)</li> <li>- 벼룩파리과 Family Phoridae 벼룩파리(<i>Diplonevra bifasciata</i>)</li> <li>- 검정파리과 Family Calliphoridae 구리금파리(<i>Lucilia sericata</i>)</li> <li>- 쉬파리과 Family Sarcophagidae</li> </ul>	‘파리’의 방제를 제품 라벨에서 주장하고자 하는 경우 <b>집파리 1종</b> 에 대한 평가를 완료하여야 한다.
개미	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 꼬마개미속 Genus <i>Monomorium</i> <b>애집개미(<i>Monomorium pharaonis</i>)</b></li> <li>- 마디개미속 Genus <i>Tapinoma</i> <b>유령개미(<i>Tapinoma melanocephalum</i>)</b></li> </ul>	‘개미’의 방제를 제품라벨에서 주장하고자 하는 경우 <b>애집개미</b> 또는 <b>유령개미 중 1종</b> 에 대한 평가를 완료하여야 한다.
흰개미	<b>흰개미(<i>Reticulitermes speratus kyushuensis</i>)</b> 칸몬흰개미( <i>Reticulitermes kanmonensis</i> ) 집흰개미( <i>Coptotermes formosanus</i> )	‘흰개미’의 방제를 제품라벨에서 주장하고자 하는 경우 국내의 우점종인 <b>흰개미</b> 에 대한 평가를 완료하여야 한다.
저장물 해충	보리나방( <i>Sitotroga cerealella</i> ) 거짓쌀도둑거저리( <i>Tribolium castaneum</i> ) 어리쌀도둑거저리( <i>Tribolium confusum</i> ) <b>어리쌀바구미(<i>Sitophilus zeamais</i>)</b> 쌀바구미( <i>Sitophilus oryzae</i> ) <b>화랑곡나방(<i>Plodia interpunctella</i>)</b> 아메리카왕거저리( <i>Zophobas morio</i> ) 권연벌레( <i>Lasioderma serricorne</i> ) 인삼벌레( <i>Stegobium paniceum</i> ) 머리대장가는납작벌레( <i>Oryzaephilus surinamensis</i> ) 팥바구미( <i>Callosobruchus chinensis</i> ) 등	‘저장물해충’의 방제를 제품라벨에서 주장하고자 하는 경우 국내의 우점종인 <b>어리쌀바구미</b> 와 <b>화랑곡나방 총 2종</b> 에 대한 평가를 모두 완료하여야 한다.
섬유 가해해충	곡식좁나방( <i>Nemapogon granella</i> ) 거미줄옷좁나방( <i>Tineola bisselliella</i> ) <b>옷좁나방(<i>Tinea translucens</i>)</b>	‘섬유가해해충’의 방제를 제품라벨에서 주장하고자 하는 경우 <b>좁류</b> 에 대한

	<p>쫄류(<i>Ctenolepisma</i> spp.)  애수시렁이(<i>Attagenus unicolor japonicus</i>)  먼지다듬이류(<i>Liposcelis</i> spp.) 등</p>	<p>시험을 필수적으로  포함하고 옷쫄나방,  애수시렁이,  먼지다듬이류 중 1종을  추가로 평가하도록 한다.</p>
--	---	---

## 4.0 일반사항

### 4.1 시험대상생물체 및 시험방법의 선택

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

4.1.2 제시된 시험방법에서 시험용기의 크기, 물질 처리방법 등이 대상생물에 적절하지 않은 경우 시험의 목적에 맞게 시험방법을 변경할 수 있으나, 이 경우 변경사항에 대하여 시험보고서에 제시된 시험방법과의 차이 및 변경 근거를 명시한 비교표를 함께 작성하여 제출하도록 한다.

4.1.3 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.

4.1.4 대상생물의 사육 및 시험 과정에서 흡혈을 위한 실험동물의 제공, 기피 효과 평가 등을 위한 인간 참가자의 연구 참여 등이 요구되는 경우 관련 법령에 따라 동물실험윤리위원회, 국가생명윤리심의위원회 등의 승인자료를 함께 제출하도록 한다.

4.1.5 필요 시 대상생물의 종 동정 자료를 제출해야 한다.

4.1.6 본 시험방법에 언급되지 않은 진드기, 하루살이, 깔따구 등의 생물에 대한 시험 방법은 유사한 습성과 행동반응을 보이는 모기, 파리 등의 비행곤충, 바퀴벌레, 개미 등의 포복곤충에 대한 시험방법을 목적에 맞게 활용할 수 있다.

## 4.2 살생물물질에 대한 시험방법

4.2.1 살생물물질에 대한 실험실시험에서는 다양한 농도 및 시간에서의 녹다운 및 치사율을 조사하며, 살생물물질의 효과는 주로 반수치사농도(LC<sub>50</sub>), 반수치사량(LD<sub>50</sub>), 반수녹다운시간(KT<sub>50</sub>) 등으로 표시한다.

4.2.2 시험결과의 보고 시 각 표적생물별로 제시된 시험방법에 따라 평가한 원자료(raw data) 및 이에 대한 통계처리 결과(probit 분석 등)를 보고한다.

4.2.3 시험결과 작성 시 평가에 사용한 대상생물의 출처, 채집지, 살충제에 대한 감수성 여부, 실내에서 계대사육 한 경우 사육조건, 실험실 조건, 시험방법 등을 상세히 기재하고 이를 함께 보고한다.

4.2.4 살생물물질에 대한 시험방법의 선정은 대표예시제품의 작용방식과 일관성 및 연계성을 갖고 있어야 한다.

4.2.5 다만, 독먹이제 등과 같이 동일한 농도로 처리하여도 섭식량에 따라 치사율이 변하는 경우, 혹은 전자모기향 등과 같이 별도의 기구를 이용하거나 제제화를 통해서만 평가가 가능한 경우에는 살생물물질 자체의 효과를 평가하기 위해 [미량국소처리시험 방법], [접촉시험방법] 등의 다른 시험방법을 통해 살생물물질의 실험실시험이 가능하다.

4.2.6 살생물물질 승인을 위한 대표예시제품의 효과를 평가할 때에는 제품의 라벨에서 주장하는 효과의 지속시간은 판정하지 않을 수 있다(예: 6개월 지속 등).

4.2.7 국외의 공인된 살생물제 시험방법(US EPA, 일본 후생노동성, 중국 농업농촌부, WHO 등)을 사용한 경우, 승인기관에서 확인이 가능하도록 사용한 시험방법 번호를 포함하여 시험방법의 정식 명칭 및 상세 시험방법을 함께 기재한다.

## 4.3 살생물제품에 대한 시험방법

4.3.1 살생물제품에 대한 시험은 실험실시험, 모의사용시험, 현장시험으로 구분된다.

4.3.2 살생물제품의 실험실시험은 효능을 나타내는 유효성분의 농도설정, 제품을 구성

하는 살생물물질을 제외한 부형제의 시험생물에 대한 영향, 독먹이 제품의 선호성 평가 등의 목적으로 사용이 가능하다.

**4.3.3** 살생물제품의 모의사용시험에서는 제품의 라벨에서 기재된 사용공간 및 사용방법을 적절히 모사한 시험환경에서 시험을 수행한다.

**4.3.4** 모의사용시험에서는 시간에 따른 시험생물의 반응, 최종적인 녹다운 효과 및 치사율을 조사하도록 하며, 라벨의 모든 내용에 대한 시험을 진행하여야 한다.

**4.3.5** 시험방법의 선정은 제품의 라벨에 기재한 사용방법을 기준으로 선정한다.

**4.3.6** 예를 들어, ‘해충에 직접 분사한다’ 등의 표현을 사용하는 경우 [직접분사시험 방법]을 통해 살생물제품의 효과를 평가하여야 한다.

**4.3.7** 적절한 시험방법의 선정 및 정확한 시험조건의 설정을 위해서는 제품의 라벨에 구체적 기준과 함께 명확한 사용방법의 작성이 요구된다(표 2).

**4.3.8** 라벨의 사용방법을 작성함에 있어 가급적 사용자가 측정하기 어려운 방식의 표현을 단독으로 사용하지 않도록 하며, 사용자의 관점에서 작성하는 것이 바람직하다.

**4.3.9** 예를 들어, 분무제는 단위면적 당 분사 횟수, 에어로졸은 분사 시간 등의 정보를 함께 제공하여 사용방법을 쉽게 이해할 수 있도록 한다.

**4.3.10** 사용방법을 작성함에 있어 ‘적량 분무한다’, ‘적절히 분무한다’, ‘(표면이 젖을 만큼) 충분히 분사한다’ 등의 애매한 표현은 사용하지 않도록 주의한다.

**4.3.11** 또한, ‘집안, 화장실 등 해충이 서식하는 곳에 처리한다’ 등 처리표면의 재질을 특정하지 않은 채 사용장소를 명시하는 것을 지양하도록 한다.

**4.3.12** 일정 면적 혹은 공간에 효과를 부여하는 살생물제품의 경우 사용방법에서 유효성이 나타나는 범위를 지정해야 하며, 범위에 대한 표현은 사용방법에 따라 평면( $m^2$  등)과 공간( $m^3$ )을 명확히 구분하여 표현하도록 한다.

**4.3.13** 예를 들어, 전자모기향과 같이 성분이 일정한 공간에 증산·확산되어 효과를 나타내는 제품은 공간을 기준으로 사용방법을 표시하도록 하며, 특정한 표면에 제품을 처리하여 효과를 발휘하는 제품은 평면을 기준으로 작성하도록 한다.

**4.3.14** 유충구제제는 제품에 사용되는 살생물물질의 종류와 특성에 따라 기준 단위를 달리할 수 있다. 처리 시 용액 전체에 고르게 퍼지는 경우 부피 단위로, 수면 부상성을 갖고 있어 수계 표면에만 성분이 퍼지는 경우 면적 단위로 표시한다.

표 2. 사용방법에 따라 적용하는 모의사용시험방법의 예시

사용방법 내 포함되는 표현	예시 제형	사용방법 내 필수 기재사항	사용 불가 표현	요구 시험방법
(대상 해충을 향해) 직접 분사한다	분사제형 (에어로졸, 연무제, 분무제 등)	-분사거리 -처리량(시간 혹은 횟수)	-적량 분무한다 -적절히 분무한다	직접분사 시험방법
(해충이 다니는) 표면에 미리 처리한다		-처리 표면의 종류 -처리 면적의 크기 -처리량(시간 혹은 횟수)	-표면이 젖을 만큼 충분히 분사한다 -집안, 화장실 등 해충이 서식하는 곳에 처리한다	접촉 시험방법
공기 중에 분사한다		-처리 공간의 부피 -처리량(시간 혹은 횟수)	-적량 분무한다	공간분사 시험방법
(모기유충 등) 수서생물의 구제	유충구제제	-(회색 시)처리농도 -처리 공간의 부피/면적		수중처리 시험방법
(개미, 바퀴 등) 해충이 출몰하는 곳에 도포/설치한다	독먹이	-(필요 시)단위면적 당 처리량 -효력의 유지기간	-적당량을 처리한다	독먹이 시험방법
기구에 부착하고 전원에 플러그를 연결하여 사용한다	전자모기향 (매트/액체)	-처리공간의 부피 -총 사용시간(효력의 유지기간)		가열증산 시험방법
약효는 (**주/개월) 동안 지속됩니다	-	-기준 처리표면의 종류 -처리 면적 등 기타정보		잔류성 평가

**4.3.15** 제품의 라벨에서 살생물제품을 특정한 장소에 설치하거나 특정한 표면에 처리하여 장기간 동안 지속적으로 효과가 나타나는 것을 주장하는 경우 라벨에 기재된 사용기간 동안 목적하는 살생물기능이 유지되는 것을 증명하여야 한다.

**4.3.16** 살생물제품의 모의사용시험은 가급적 제품의 라벨에서 주장하는 처리공간의 크기와 동일한 조건에서 시행하여야 하나, 부득이한 경우 작은 공간에서 처리농도와 처리량을 조절하여 평가할 수 있다.

**4.3.17** 다만 시험공간이 감소하는 경우 시험생물의 행동이나 제품의 확산 등에 영향이 없음을 확인하여야 하며, 넓은 공간에서 처리하는 제품의 시험공간을 감소시키는 경우 피트-그래디 챔버(1.8 m × 1.8 m × 1.8 m)보다 작을 수 없다.

**4.3.18** 각 대상생물체별로 제시된 시험방법에 따라 평가한 최종 치사율 혹은 기피율, 원자료 및 이에 대한 통계처리 결과를 보고한다.

**4.3.19** 제품의 사용목적 등을 고려하여 필요 시 현장시험을 실시한다.

**4.3.20** 현장시험은 살생물제품이 실제 사용되는 환경에서 진행하며, 시험수행 전·후의 대상 생물의 밀도 조사를 실시하여 처리 전·후의 개체군 감소율로 살생물제품의 효과를 평가한다.

**4.3.21** 현장시험에서는 시험생물의 밀도를 인위적으로 조절하기 위해 사육시설에서 별도로 계대 사육한 시험생물을 투입하는 등의 조작을 시행하지 않아야 한다.

**4.3.22** 국외의 공인된 살생물제 시험방법(미국 EPA, 일본 후생노동성, 중국 농업농촌부, WHO 등)을 사용한 경우, 승인기관에서 확인이 가능하도록 사용한 시험방법 번호를 포함한 시험방법의 정식 명칭 및 상세 시험방법을 함께 기재한다.

**4.3.23** 제시된 시험방법을 기준으로 살생물제품에 대한 효과·효능 시험을 진행하였을 때, 장기간 사용하는 제품의 경우 평가제품의 라벨에서 주장하는 사용기간을 기준으로 제품의 사용기간의 10%, 50% 및 90% 사용 완료 시점에 대한 시험을 실시한다.

## **4.4 시험방법 설정의 예시**

**4.4.1** 살생물물질 및 살생물제품의 승인을 위한 효과·효능 시험자료 생산 과정에서 다양한 시험이 진행되어야 하며, 시험 과정에서 물질과 제품이 주장하는 효과를 확인할 수 없는 경우 승인이 반려될 수 있으므로 주의가 필요하다.

**4.4.2** 시험방법의 선정은 살생물물질 및 살생물제품의 사용목적과 사용방법에 따라 적절히 선택되어야 한다.

**4.4.3** 살생물물질의 시험은 농도 및 시간에 따른 시험생물의 반응을 관찰하며, 이를 바탕으로 제품 내에서의 살생물물질의 함량을 결정하는 자료로 활용된다.

**4.4.4** 살생물물질의 승인을 위한 효과·효능 시험은 살생물물질 자체에 대한 평가와 대표예시제품의 모의사용시험으로 구성된다.

표 3. 예시 시나리오 1: 살생물물질 승인, 모기용 에어로졸 살충제 개발 목적

구분	살생물물질	대표예시제품
시험단계	실험실시험	모의사용시험
제형	액상	에어로졸
시료의 준비	다양한 농도로 용매에 희석하여 준비	향후 사용하고자 하는 제형의 제법을 준수하여 제작
대상생물	지하집모기 ( <i>Culex pipiens molestus</i> )	물질 시험과 동일 종 ( <i>Culex pipiens molestus</i> )
시험방법	미량국소처리시험방법	직접분사시험방법
적용농도	최소 4개 이상의 농도를 기준으로 평가	실제 제품 내 목표 투입함량의 단일농도로 평가하되, 농도 선택의 적절성을 평가하기 위해 다양한 농도로 시험 가능
시험결과	반수치사농도(LD <sub>50</sub> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 반수녹다운시간(KT<sub>50</sub>)</li> <li>- 최종녹다운율(%)</li> <li>- 치사율(%)</li> </ul>
결과의 판정	살생물물질의 실험실시험 결과 및 대표예시제품의 승인기준 충족 여부를 종합적으로 판단하여 결정	

표 4. 예시 시나리오 2: 살생물물질 승인, 바퀴벌레 독먹이 살충제 개발 목적

구분	살생물물질	대표예시제품
시험단계	실험실시험	모의사용시험
제형	고상	겔
시료의 준비	다양한 농도로 용매에 희석하여 준비	향후 사용하고자 하는 제형의 제법을 준수하여 제작
대상생물	독일바퀴 ( <i>Blattella germanica</i> )	물질 시험과 동일 종 ( <i>Blattella germanica</i> )
시험방법	접촉시험방법	독먹이시험방법
적용농도	최소 4개 이상의 농도를 기준으로 평가	실제 제품 내 목표 투입함량의 단일농도로 평가하되, 농도 선택의 적절성을 평가하기 위해 다양한 농도로 시험 가능
시험결과	반수치사농도(LD <sub>50</sub> )	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 반수사멸시간(LT<sub>50</sub>)</li> <li>- 최종치사율(%)</li> <li>- 잔효성 평가는 미 실시</li> </ul>
결과의 판정	살생물물질의 실험실시험 결과 및 대표예시제품의 승인가격 기준 충족여부를 종합적으로 판단하여 결정	

**4.4.5** 살생물제품의 승인을 위한 효과 효능 시험은 실제 판매하고자 하는 완제품의 라벨에 기재되는 사용조건이 반영된 시험방법(모의사용 시험방법)으로 실제 사용농도에 대하여 시행하도록 한다. 또한, 제품의 농도 설정에 대한 과학적근거가 입증될 수 있는 시험자료 등(감수성시험에 관한 자료 포함)이 요구될 수 있다.

**4.4.6** 용매, 유화제 등의 제형을 구성하는 부형제(co-formulants)를 비롯해 휘산기구의 설정 온도, 분사 제형의 분사구 모양, 독먹이 케이스의 내부구조 등 용기의 형태와 구조에 따라 살생물제품의 효과·효능이 달라질 수 있으므로 살생물제품의 시험은 최종적인 완제품의 형태로 진행하는 것이 매우 중요하다.

**4.4.7** 장기간의 사용을 주장하는 제품에서는 제품의 라벨에 기재된 사용기간 동안 충분한 효과가 유지됨을 증명하여야 한다.

표 5. 제형의 종류에 따른 적용가능 시험방법의 예시

제형	주요 표적생물체	적용 시험방법의 예시
에어로졸, 분무제, 희석용 유제	모기 등 비행곤충 바퀴, 진드기 등 포복곤충	직접분사시험방법 접촉시험방법 공간분사시험방법 (필요시)잔류효과 시험기준
독먹이 (젤, 베이트)	바퀴, 개미, 흰개미 등 포복곤충	독먹이시험방법 잔류효과 시험기준
가열증산제 (모기향 등)	모기 등 비행곤충	가열증산시험방법 (필요시)잔류효과 시험기준
수계용 입제/수화제	모기유충 등	수중처리시험방법 (필요시)잔류효과 시험기준
휘산제	섬유가해해충, 저장물해충 등	혼증시험방법 (필요시)잔류효과 시험기준
살서제	설치류	설치류의 독먹이시험방법 (필요시)잔류효과 시험기준

## 5.0 시험결과와 보고

살충제류 승인을 위해 제출되는 효과·효능 시험보고서에는 개요, 시험대상생물체, 시험 물질(제품) 및 방법, 원자료, 시험결과 및 통계분석자료, 시험결과요약서 결론 및 시험기관 (연구책임자)의 정보 등이 포함되어야 한다. 또한, 시험물질(제품)의 함량분석에 따른 조성 정보(예: 시험성적서 등)를 제출하여야 한다.

## 6.0 통계처리 방법

**6.1** 통상적으로 살생물물질의 살충효과는 반수치사량 혹은 반수치사농도값(LD<sub>50</sub> 또는 LC<sub>50</sub>, 실험 조건에서 개체군의 반을 치사시킬 수 있는 약량 혹은 농도)을 산정하여 보고 하도록 한다.

**6.2** 통계적 관점에서 반수치사량 및 반수치사농도는 3개의 처리농도에서의 치사율 값을 이용하여 판정할 수 있으나, 해당 방식에 의한 산정은 신뢰도가 매우 낮으므로 최소한 4개 이상의 구간(예: 치사율 구간 예: 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 판정한다.

**6.3** 반수치사량 또는 반수치사농도뿐 아니라 통계분석 결과에 따른 p-value, 카이제곱값 등을 보조적으로 함께 분석한다.

**6.4** 반수치사량 및 농도는 살생물물질의 효과·효능을 상대적으로 비교하는 데에 효과적이며, 반수치사량 및 농도가 높다고 해서 무조건적으로 해당 살생물물질의 효력이 떨어진다고는 보기 어렵다.

**6.5** 예를 들어 반수치사량이 더 낮은 물질을 소량으로 제품에 적용하는 경우에 비해, 반수치사량이 더 높은 물질을 대량으로 제품에 함유하는 경우 제품에 있어 더 높은 효과·효능을 확보할 수도 있다.

**6.6** 다만 반수치사량이 해당 시험방법에서 산정되기 어려운 경우(예: 시험방법에서 적용할 수 있는 최대치의 약량에서도 50% 이상의 치사율을 확보하지 못하는 경우) 해당 물질의 살생물기능은 적용된 시험방법으로는 판정하기 어려우며, 통상적으로 살생물 기능이 없다고 판단하는 것이 타당하다.

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

**6.8** 효과·효능 시험은 최소한 3반복 이상으로 실시하고, 시험 준비과정(시료의 준비 및 희석 등)을 포함해 시험생물 또한 3개의 독립된 사육상을 이용하여 별도의 시험을 진행하여야 한다.

**6.9** 많은 평가자들이 하는 실수는 동일한 시료에 대해 하나의 사육상만으로 모든 개체를 평가한 후 3반복으로 시험을 진행하였다고 보고하는 것이다. 이는 생물통계학적 관점에서 동일한 개체군을 대상으로 1회 시험을 진행한 것이므로 진정한 의미의 3반복이라 보기 어렵다(pseudo-replication).

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

## 구제제류 - 살생물제품의 잔류효과 시험기준

2022

### 1.0 개요

살생물제품의 라벨에서 일정 기간 약효가 지속됨을 주장하는 경우 본 시험기준을 근거로 해당 살생물제품의 시험을 수행하도록 한다.

### 2.0 시험가능 살생물제품 유형

**2.1** 액체전자모기향, 독먹이, 분사제, 저장물해충과 섬유가해해충에 대한 방제제 등 설치 및 분사 후 수 일~수개월까지 살생물제품의 효력지속 또는 사용기간을 명시한 살생물 제품 완제품을 대상으로 한다.

**2.2** 살생물제품 처리 후 24시간 이내에 효과가 사라지는 경우에는 별도의 지속 효과를 평가하지 않는다.

### 3.0 잔류성 평가기준

#### 3.1 평가 시점의 기준

**3.1.1** 제품의 지속기간 평가는 라벨에 명시된 사용기간을 기준으로 실시한다.

**3.1.2** 제품에서 주장하는 전체 사용기간을 기준으로 개봉 및 처리 후 10%, 50% 및 90% 시점을 포함한 최소 3개 지점 이상의 단계에서 시행한다.

**3.1.3** 예를 들어, 개봉 후 4주간 효과가 지속되는 제품의 경우 개봉 후 3일, 14일, 25일

시점에서 살생물효과를 평가한다.

**3.1.4** 전체 사용기간의 10% 지점에서의 평가 결과는 제품의 개봉 및 처리 직후 시점에서의 평가로 갈음할 수 있다.

**3.1.5** 본 시험기준은 장기 보관성을 평가하는 것이 아닌 장기 잔류성을 평가하는 것이므로, 제품을 설치한 또는 처리한 표면을 대상으로 진행하는 것임을 유의한다.

### **3.2** 시험방법의 기준

**3.2.1** 각 평가시점에서의 시험은 각 살생물제품의 일반적인 모의사용시험과 동일하게 실시한다.

**3.2.2** 개봉 및 처리 초기의 모의사용시험에서 대상생물에 대한 충분한 구제효과가 입증된 경우라도 보관 및 휘산에 따른 살생물물질의 변성, 손실, 제거 등의 가능성이 존재하므로, 실험실 시험자료는 인정되지 않는다.

### **3.3** 살생물제품 및 처리 표면의 준비와 보관

**3.3.1** 시험은 최소 3반복으로 진행되어야 하며, 평가에 사용된 살생물제품 및 살생물제품을 처리한 표면은 한 번만 사용해야 한다.

**3.3.2** 즉, 3개 시점에서 평가를 3반복으로 진행하는 경우 9개의 처리군을 대상으로 별도의 시험을 실시하여야 한다.

**3.3.3** 잔류성 평가에 사용하는 제품은 가급적 별도의 로트(Lot) 혹은 배치(Batch)에서 생산된 제품을 대상으로 시행하는 것이 바람직하며, 하나의 로트 혹은 배치에서 생산된 제품을 3개의 서로 다른 평가시점에서 사용하는 것은 가능하다.

**3.3.4** 제품과 처리표면은 빛, 바람, 강수(예: 옥외에 처리하는 제품의 경우) 등 환경 조건에 의해 살생물기능에 영향을 받을 수 있으므로, 살생물제품의 및 제품이 처리된 표면의 장기 보관은 실제 사용조건을 고려하여 수행되어야 한다.

**3.3.5** 실내에 사용하는 제품은 일상생활 조건에서 노출되는 빛, 습도 등을 동일하게 유지하도록 하며, 야외에서 사용하거나 처리하는 제품은 실제 제품이 사용되는 조건과 동일한 환경에서 지속성을 평가하여야 한다.

**3.3.6** 살생물제품의 효과를 보존하기 위한 목적으로 환기가 되지 않는 별도의 차단 용기 등에 제품 및 처리표면을 보관하지 않도록 주의한다.

**3.3.7** 시험기간의 단축을 위한 가속시험 또는 가속시험을 통한 잔류성 평가는 해당 조건에서의 살생물물질 및 살생물제품을 구성하는 다른 성분들의 변화가 제품 및 물질의 종류에 따라 다양하게 나타날 수 있으므로 인정되지 않는다.

## **4.0 잔류효과의 보고 및 판정**

### **4.1 제출자료의 기준**

**4.1.1** 잔류효과의 평가에 있어 각 평가시점의 통계처리된 자료를 원자료와 함께 제출한다.

**4.1.2** 전자모기향과 같이 시간의 경과에 따라 성상이 줄어들거나 변하는 제품의 경우 각 평가시점의 무게 감소량 등의 휘산성 자료를 함께 제출하며, 경우에 따라 각 평가시점의 성분분석 결과를 함께 제출할 수 있다.

**4.1.3** 보관방법에 대한 사진과 온도, 습도, 광조건 등과 같은 환경조건 및 설정에 대한 근거자료 등 장기보관과정에 대한 증빙자료를 효과·효능 평가결과와 함께 제출한다.

**4.1.4** 장기보관은 기본적으로 평가자가 수행하나, 부득이한 경우 의뢰자가 장기 보관한 시료에 대한 평가를 의뢰하여 수행할 수 있다.

**4.1.5** 본 경우 의뢰자가 작성한 장기보관과정에 대한 자료를 보고서에 별첨한다.

### **4.2 잔류효과의 판정**

**4.2.1** 제품의 전체 사용기간을 기준으로 3개 이상의 시점에서 진행한 모든 잔류효과 시험에서 통계적으로 동일한 수준의 효과·효능이 입증된 경우 해당 제품은 라벨에서 주장하는 사용기간 동안 충분한 효과를 갖고 있는 것으로 판정한다.

**4.2.2** 각 평가시점에서의 시험결과가 통계적으로 차이를 나타내며 시간에 따른 효력의 감소가 발생하나, 감소한 효력이 해당 살생물제품의 승인기준을 충족하는 경우에는 제품이 주장하는 살생물기능을 갖고 있는 것으로 판정한다.





## 살충제 - 모기

2022

## 1.0 목적

살충제 중 모기 구제를 위한 살생물물질 및 살생물제품의 효과·효능을 평가하기 위한 시험대상생물체 및 시험방법의 종류를 제시하였다.

### 1.1 시험대상생물체

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 구제 대상으로 기재하고자 하는 경우 집모기(*Culex*) 속 모기 1종, 숲모기(*Aedes*) 속 모기 1종, 총 2종에 대한 평가를 모두 완료하여야 한다.

### 1.2 살생물물질에 대한 시험

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

1.2.2 모기향, 전자모기향 등을 목적으로 사용되는 살생물물질의 평가는 [증산시험 방법]으로도 진행할 수 있으나, 제제 및 휘산기구에 의한 영향과 살생물물질 자체의 효과를 구분하기 어려운 경우 시험의 편의성 및 결과의 신뢰성 확보를 위해 [미량국소 처리시험방법] 혹은 [접촉시험방법]으로 시행하는 것이 더욱 바람직하다.

시험방법의 명칭	평가의 목적
미량국소처리시험방법 (NIER-BP-E5-100)	소량의 살생물물질을 시린지를 이용하여 시험곤충에 직접 처리
접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)	특정 표면에 살생물물질을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가
직접분사시험방법 (NIER-BP-E5-104) (NIER-BP-E5-200)	일정 거리에 대상생물을 배치하고 살생물물질의 농도 혹은 분사량을 달리한 제품을 직접 분사하여 살충효과를 평가
수중처리시험방법 (NIER-BP-E5-106) (NIER-BP-E5-204)	일정량의 물에 살생물물질을 농도별로 희석한 후 모기 유충을 투입하여 살충효과를 평가

### 1.3 살생물제품에 대한 시험

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

**1.3.2** 제품 자체 혹은 제품이 처리된 표면에서 지속적으로 효과가 유지되는 것을 주장하는 경우 [살생물제품의 잔류효과 시험기준]을 참조한다.

제품의 사용목적	제형의 예시	시험방법
대상생물을 향해 직접 분사	에어로졸, 분무제 등	직접분사시험방법 (NIER-BP-E5-104) (NIER-BP-E5-200)
제품을 일정한 공간을 향해 분사하여 구제효과를 확보	에어로졸, 분무제 등	공간분사시험방법 (NIER-BP-E5-105) (NIER-BP-E5-202)
특정 표면에 제품을 처리한 후 대상생물이 접촉하여 치사 효과를 확보	에어로졸, 분무제 등	접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)

제품을 가열증산하여 적용공간 전체에 치사 효과를 부여	모기향, 전자모기향 등	가열증산시험방법 (NIER-BP-E5-107)
물에 서식하는 모기 유충의 구제	수화제, 입제, 과립 등	수중처리시험방법 (NIER-BP-E5-106) (NIER-BP-E5-204)

## 살충제 - 바퀴벌레

2022

## 1.0 목적

살충제 중 바퀴벌레 구제를 위한 살생물물질 및 살생물제품의 효과·효능을 평가하기 위한 시험대상생물체 및 시험방법의 종류를 제시하였다.

### 1.1 시험대상생물체

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 구제 대상으로 기재하고자 하는 경우에는 독일바퀴 또는 집바퀴 중 1종에 대한 평가를 완료하여야 한다.

### 1.2 살생물물질에 대한 시험

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

1.2.2 독먹이제 등을 목적으로 사용되는 살생물물질의 평가는 [독먹이시험방법]으로 진행할 수 있으나, 독성 반응을 나타냄과 동시에 섭식량이 감소하거나 부형제의 유인 효과의 차이에 의해 살생물물질의 효과를 정확히 판정하기 어려운 경우에는 시험의 편의성 및 결과의 신뢰성 확보를 위해 [미량국소처리시험방법] 혹은 [접촉시험방법]으로 시행할 수 있다.

시험방법의 명칭	평가의 목적
미량국소처리시험방법 (NIER-BP-E5-100)	소량의 살생물물질을 시린지를 이용하여 시험곤충에 직접 처리
접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)	특정 표면에 살생물물질을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가
직접분사시험방법 (NIER-BP-E5-104) (NIER-BP-E5-200)	일정 거리에 대상생물을 배치하고 살생물물질의 농도 혹은 분사량을 달리한 제품을 직접 분사하여 살충효과를 평가

### 1.3 살생물제품에 대한 시험

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

**1.3.2** 제품 자체 혹은 제품이 처리된 표면에서 지속적으로 효과가 유지되는 것을 주장하는 경우 [살생물제품의 잔류효과 시험기준]을 참조한다.

**1.3.3** 독먹이의 경우 제품에 대한 선호성(palatability) 시험을 함께 수행한다.

제품의 사용목적	제형의 예시	시험방법
대상생물을 향해 직접 분사	에어로졸, 분무제 등	직접분사시험방법 (NIER-BP-E5-104) (NIER-BP-E5-200)
제품을 일정한 공간을 향해 분사하여 구제효과를 확보	전량분사 에어로졸 등	공간분사시험방법 (NIER-BP-E5-105) (NIER-BP-E5-202)
특정 표면에 제품을 처리한 후 대상생물이 접촉하여 치사 효과를 확보	에어로졸, 분무제 등	접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)

제품에 유인된 바퀴벌레가 제품을 섭취한 후 사멸	독먹이(겔, 스테이션 등)	독먹이시험방법 (NIER-BP-E5-108) (NIER-BP-E5-203)
-------------------------------	----------------	---

## 살충제 - 파리

2022

### 1.0 목적

살충제 중 파리 구제를 위한 살생물물질 및 살생물제품의 효과·효능을 평가하기 위한 시험대상생물체 및 시험방법의 종류를 제시하였다.

#### 1.1 시험대상생물체

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

1.1.2 살생물제품의 라벨 상에 ‘파리’를 구제 대상으로 기재하고자 하는 경우에는 집파리에 대해 평가를 완료하여야 한다.

#### 1.2 살생물물질에 대한 시험

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

시험방법의 명칭	평가의 목적
미량국소처리시험방법 (NIER-BP-E5-100)	소량의 살생물물질을 시린지를 이용하여 시험곤충에 직접 처리
접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)	특정 표면에 살생물물질을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가

직접분사시험방법 (NIER-BP-E5-104) (NIER-BP-E5-200)	일정 거리에 대상생물을 배치하고 살생물물질의 농도 혹은 분사량을 달리한 제품을 직접 분사하여 살충효과를 평가
수중처리시험방법 (NIER-BP-E5-106) (NIER-BP-E5-204)	일정량의 물에 살생물물질을 농도별로 희석한 후 모기 유충을 투입하여 살충효과를 평가

### 1.3 살생물제품에 대한 시험

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

**1.3.2** 제품 자체 혹은 제품이 처리된 표면에서 지속적으로 효과가 유지되는 것을 주장하는 경우 [살생물제품의 잔류효과 시험기준]을 참조한다.

제품의 사용목적	제형의 예시	시험방법
대상생물을 향해 직접 분사	에어로졸, 분무제 등	직접분사시험방법 (NIER-BP-E5-104) (NIER-BP-E5-200)
제품을 일정한 공간을 향해 분사하여 구제효과를 확보	에어로졸, 분무제 등	공간분사시험방법 (NIER-BP-E5-105) (NIER-BP-E5-202)
특정 표면에 제품을 처리한 후 대상생물이 접촉하여 치사 효과를 확보	에어로졸, 분무제 등	접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)

## 살충제 - 개미

2022

## 1.0 목적

살충제 중 개미 구제를 위한 살생물물질 및 살생물제품의 효과·효능을 평가하기 위한 시험대상생물체 및 시험방법의 종류를 제시하였다.

### 1.1 시험대상생물체

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

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

### 1.2 살생물물질에 대한 시험

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

1.2.2 독먹이제 등을 목적으로 사용되는 살생물물질의 평가는 [독먹이시험방법]으로 진행할 수 있으나, 독성 반응을 나타냄과 동시에 섭식량이 감소하거나 부형제의 유인 효과의 차이에 의해 살생물물질의 효과를 정확히 판정하기 어려운 경우에는 시험의 편의성 및 결과의 신뢰성 확보를 위해 [미량국소처리시험방법] 혹은 [강제접촉시험방법]으로 시행할 수 있다.

시험방법의 명칭	평가의 목적
미량국소처리시험방법 (NIER-BP-E5-100)	소량의 살생물물질을 시린지를 이용하여 시험곤충에 직접 처리
접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)	특정 표면에 살생물물질을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가
직접분사시험방법 (NIER-BP-E5-104) (NIER-BP-E5-200)	일정 거리에 대상생물을 배치하고 살생물물질의 농도 혹은 분사량을 달리한 제품을 직접 분사하여 살충효과를 평가

### 1.3 살생물제품에 대한 시험

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

**1.3.2** 제품 자체 혹은 제품이 처리된 표면에서 지속적으로 효과가 유지되는 것을 주장하는 경우 [살생물제품의 잔류효과 시험기준]을 참조한다.

**1.3.3** 독먹이의 경우 제품에 대한 선호성(palatability) 시험을 함께 수행한다.

제품의 사용목적	제형의 예시	시험방법
대상생물을 향해 직접 분사	에어로졸, 분무제 등	직접분사시험방법 (NIER-BP-E5-104) (NIER-BP-E5-200)
제품을 일정한 공간을 향해 분사하여 구제효과를 확보	전량분사 에어로졸 등	공간분사시험방법 (NIER-BP-E5-105) (NIER-BP-E5-202)
특정 표면에 제품을 처리한 후 대상생물이 접촉하여 치사 효과를 확보	에어로졸, 분무제 등	접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)

제품에 유인된 개미가 제품을 섭취한 후 사멸	독먹이(겔, 스테이션 등)	독먹이시험방법 (NIER-BP-E5-108) (NIER-BP-E5-203)
-----------------------------	----------------	---

## 살충제 - 흰개미

2022

## 1.0 목적

살충제 중 흰개미 구제를 위한 살생물물질 및 살생물제품의 효과·효능을 평가하기 위한 시험대상생물체 및 시험방법의 종류를 제시하였다. 흰개미는 이름과 생김새 때문에 개미와 혼동할 수 있으나, 분류학적 관점에서 바퀴목(Blattodea)에 속한 곤충으로 벌목(Hymenoptera)에 속한 개미와는 전혀 다른 종류의 생물이다. 생활사와 가해 형태의 차이가 분명하며 이를 구분하여 평가하여야 한다.

### 1.1 시험대상생물체

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 구제 대상으로 기재하고자 하는 경우에는 국내의 우점종인 흰개미에 대해 평가를 완료하여야 한다.

### 1.2 살생물물질에 대한 시험

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

1.2.2 독먹이제 등을 목적으로 사용되는 살생물물질의 평가는 [흰개미의 독먹이시험 방법]으로 진행할 수 있으나, 독성 반응을 나타냄과 동시에 섭식량이 감소하거나 부형제의 유인 효과의 차이에 의해 살생물물질의 효과를 정확히 판정하기 어려운 경우에는 시험의 편의성 및 결과의 신뢰성 확보를 위해 [미량국소처리시험방법] 혹은 [강제

접촉시험방법]으로 시행할 수 있다.

시험방법의 명칭	평가의 목적
미량국소처리시험방법 (NIER-BP-E5-100)	소량의 살생물물질을 시린지를 이용하여 시험곤충에 직접 처리
접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)	특정 표면에 살생물물질을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가
훈증시험방법 (NIER-BP-E5-102) (NIER-BP-E5-205) (NIER-BP-E5-206)	기체 상태의 살생물물질이 대상생물에 미치는 영향을 평가
직접분사시험방법 (NIER-BP-E5-104) (NIER-BP-E5-200)	일정 거리에 대상생물을 배치하고 살생물물질의 농도 혹은 분사량을 달리한 제품을 직접 분사하여 살충효과를 평가

### 1.3 살생물제품에 대한 시험

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

**1.3.2** 제품 자체 혹은 제품이 처리된 표면에서 지속적으로 효과가 유지되는 것을 주장하는 경우 [살생물제품의 잔류효과 시험기준]을 참조한다.

**1.3.3** 독먹이의 경우 제품에 대한 선호성(palatability) 시험을 함께 수행한다.

제품의 사용목적	제형의 예시	시험방법
특정 표면에 제품을 처리한 후 대상생물이 접촉하여 치사 효과를 확보	분무제 등	접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)

제품에 유인된 흰개미가 제품을 섭취한 후 사멸	독먹이	흰개미의 독먹이시험방법 (NIER-BP-E5-109)
토양에 약제를 혼합하여 흰개미에 대한 살충효과를 확보	분무제 등	흰개미의 토양처리 시험방법 (NIER-BP-E5-110)

## 살충제 - 포복흡혈곤충

2022

## 1.0 목적

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

## 1.1 시험대상생물체

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 라벨에 명시하도록 한다.

## 1.2 살생물물질에 대한 시험

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

시험방법의 명칭	평가의 목적
미량국소처리시험방법 (NIER-BP-E5-100)	소량의 살생물물질을 시린지를 이용하여 시험곤충에 직접 처리
접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)	특정 표면에 살생물물질을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가

직접분사시험방법 (NIER-BP-E5-104) (NIER-BP-E5-200)	직접분사시험방법 (NIER-BP-E5-104) (NIER-BP-E5-200)
--	--

### 1.3 살생물제품에 대한 시험

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

제품의 사용목적	제형의 예시	시험방법
대상생물을 향해 직접 분사	에어로졸, 분무제 등	직접분사시험방법 (NIER-BP-E5-104) (NIER-BP-E5-200)
제품을 일정한 공간을 향해 분사하여 구제효과를 확보	에어로졸, 분무제 등	공간분사시험방법 (NIER-BP-E5-105) (NIER-BP-E5-202)
특정 표면에 제품을 처리한 후 대상생물이 접촉하여 치사 효과를 확보	에어로졸, 분무제 등	접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)
밀폐된 공간에서 성분이 휘산되어 치사 효과를 부여	훈증제 등	훈증시험방법 (NIER-BP-E5-102) (NIER-BP-E5-205) (NIER-BP-E5-206)

## 살충제 - 벌

2022

### 1.0 목적

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

#### 1.1 시험대상생물체

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 구제 대상으로 기재하고자 하는 경우에는 생활 반경에서 접할 수 있는 말벌속, 땅벌속 및 쌍살벌속에 속하는 벌을 시험종으로 선정하며, 평가에 사용된 종을 라벨에 명시하도록 한다.

#### 1.2 살생물물질에 대한 시험

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

시험방법의 명칭	평가의 목적
미량국소처리시험방법 (NIER-BP-E5-100)	소량의 살생물물질을 시린지를 이용하여 시험곤충에 직접 처리
접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)	특정 표면에 살생물물질을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가

직접분사시험방법 (NIER-BP-E5-104) (NIER-BP-E5-200)	일정 거리에 대상생물을 배치하고 살생물물질의 농도 혹은 분사량을 달리한 제품을 직접 분사하여 살충효과를 평가
--	--

### 1.3 살생물제품에 대한 시험

**1.3.1** 벌에 대한 살생물제품의 효과·효능시험은 아래에 제시된 시험방법을 목적에 맞게 선택적으로 수행할 수 있다.

**1.3.2** 벌의 이동반경 및 공격성을 고려하였을 때 직접분사 제품은 사용자의 안전을 위해 충분한 거리를 두고 시험생물을 향해 분사해야 한다.

**1.3.3** 말벌 등 공격성과 위험성을 가진 대상생물의 방제를 라벨에서 주장하는 경우 야외환경에서의 현장시험을 통해 충분한 효과가 입증되어야 한다.

제품의 사용목적	제형의 예시	시험방법
대상생물을 향해 직접 분사	에어로졸, 분무제 등	직접분사시험방법 (NIER-BP-E5-104) (NIER-BP-E5-200)
특정 표면에 제품을 처리한 후 대상생물이 접촉하여 치사 효과를 확보	에어로졸, 분무제 등	접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)

## 살충제 - 저장물해충

2022

## 1.0 목적

살충제 중 저장물해충 구제를 위한 살생물물질 및 살생물제품의 효과·효능을 평가하기 위한 시험대상생물체 및 시험방법의 종류를 제시하였다.

## 1.1 시험대상생물체

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 구제 대상으로 기재하고자 하는 경우에는 국내의 저장물해충 중 우점종인 어리쌀바구미와 화랑곡나방 2종에 대해 모두 평가를 완료하여야 한다.

## 1.2 살생물물질에 대한 시험

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

시험방법의 명칭	평가의 목적
미량국소처리시험방법 (NIER-BP-E5-100)	소량의 살생물물질을 시린지를 이용하여 시험곤충에 직접 처리

접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)	특정 표면에 살생물물질을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가
혼증시험방법 (NIER-BP-E5-102) (NIER-BP-E5-205) (NIER-BP-E5-206)	기체 상태의 살생물물질이 대상생물에 미치는 영향을 평가

### 1.3 살생물제품에 대한 시험

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

**1.3.2** 제품 자체 혹은 제품이 처리된 표면에서 지속적으로 효과가 유지되는 것을 주장하는 경우 [살생물제품의 잔류효과 시험기준]을 참조한다.

제품의 사용목적	제형의 예시	시험방법
특정 표면에 제품을 처리한 후 대상생물이 접촉하여 치사 효과를 확보	에어로졸, 분무제 등	접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)
밀폐된 공간에서 성분이 휘산되어 치사 효과를 부여	혼증제 등	혼증시험방법 (NIER-BP-E5-102) (NIER-BP-E5-205) (NIER-BP-E5-206)

## 살충제 - 섬유가해해충

2022

### 1.0 목적

살충제 중 섬유가해해충 구제를 위한 살생물물질 및 살생물제품의 효과·효능을 평가하기 위한 시험대상생물체 및 시험방법의 종류를 제시하였다.

#### 1.1 시험대상생물체

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 구제 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.

시험방법의 명칭	평가의 목적
미량국소처리시험방법 (NIER-BP-E5-100)	소량의 살생물물질을 시린지를 이용하여 시험곤충에 직접 처리

접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)	특정 표면에 살생물물질을 처리한 이후 시험곤충을 노출시켜 평가
혼증시험방법 (NIER-BP-E5-102) (NIER-BP-E5-205) (NIER-BP-E5-206)	기체 상태의 살생물물질이 대상생물에 미치는 영향을 평가

### 1.3 살생물제품에 대한 시험

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

**1.3.2** 제품 자체 혹은 제품이 처리된 표면에서 지속적으로 효과가 유지되는 것을 주장하는 경우 [살생물제품의 잔류효과 시험기준]을 참조한다.

제품의 사용목적	제형의 예시	시험방법
특정 표면에 제품을 처리한 후 대상생물이 접촉하여 치사 효과를 확보	에어로졸, 분무제 등	접촉시험방법 (NIER-BP-E5-101) (NIER-BP-E5-201)
밀폐된 공간에서 성분이 휘산되어 치사 효과를 부여	혼증제 등	혼증시험방법 (NIER-BP-E5-102) (NIER-BP-E5-205) (NIER-BP-E5-206)

**살충제 - 실험실시험 - 미량국소처리시험방법**

2021

**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 치사 효과 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 치사 효과가 발생하지 않음을 확인하여야 한다.

## 4.3 시험방법

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

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

**4.3.3** 마취 과정에서 필요 이상의 디에틸에테르나 이산화탄소 또는 저온을 공급하는

경우 대상 물질의 효과에 영향을 줄 수 있으므로 마취 시간은 최소한으로 유지하도록 한다.

**4.3.4** 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.

**4.3.5** 음성대조군은 용매만을 처리한다.

**4.3.6** 시료가 처리된 대상생물은 청결한 용기로 이동하며, 적당량의 수분과 먹이를 함께 공급하도록 한다.

**4.3.7** 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

## 5.0 결과보고

### 5.1 계산

**5.1.1** 일반적으로 치사 효과는 처리 후 24시간 경과 시점에서 결과를 기록하도록 하나, 대상생물 및 평가물질의 특성에 따라 48시간 혹은 일정 시간에서의 치사 효과를 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(예: 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 예: 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 probit 분석에 따른 통계자료( $LD_{50}$ 과  $LD_{90}$ 값, 기울기값, 95% 신뢰한계 등)를 약량별 시험결과 원자료와 함께 제출한다.

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

## 살충제 - 접촉시험방법

2022

## 1.0 개요

본 시험방법은 살생물물질 및 살생물제품이 처리된 특정 시험표면에 대상생물을 직접 접촉시켜 효과를 평가하며, 살생물제품이 ‘대상 생물의 서식지 및 잘 다니는 통로, 틈 또는 접촉할 표면에 처리한다’ 등의 사용방법을 주장하는 경우 본 시험방법을 통해 평가를 진행하도록 한다. 평가시료를 처리하는 표면의 종류, 성상, 처리용량, 처리 후 대상을 접촉하기까지의 시간, 밀봉 여부 등 시험의 결과에 영향을 주는 다양한 요인들이 있으므로 조건을 일정하게 하여 진행할 필요가 있다. 추가로 제품에서 일정 기간의 약효 지속성을 주장하는 경우 [살생물제품의 잔류효과 시험기준]을 참조하도록 한다.

## 2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

특정 표면에 처리하여 사용하는 유제(油劑), 유제(乳劑), 분제, 미탁제, 에어로졸제 등과 같은 살생물제품의 반제품 혹은 완제품 및 이러한 제품의 유효성분으로 사용되는 살생물물질을 대상으로 한다.

## 3.0 대상생물

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

## 4.0 시험절차

### 4.1 시험물질

#### **4.1.1 살생물물질**

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

#### **4.1.2 살생물제품**

**4.1.2.1** 완제품 형태의 살생물제품은 별도의 조작 없이 그대로 사용하며, 반제품 형태의 살생물제품은 시험 목적에 맞게 희석 등의 과정을 거쳐 준비한다.

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

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

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

#### **4.1.3 대조군**

**4.1.3.1** 살생물물질을 평가하는 경우 살생물물질의 용해 및 희석에 사용된 동일한 용매를 음성대조군으로 사용한다.

**4.1.3.2** 해당 경우 시험생물이 용매에 의한 치사 효과가 발생하지 않음을 확인하여야 한다.

**4.1.3.3** 반제품 혹은 완제품 형태의 살생물제품에 대한 시험의 경우 제품에 포함된 용매 및 유화제 등이 제품의 효과에 영향을 줄 수 있다.

**4.1.3.4** 살생물제품의 평가에 대해서는 동일한 방식으로 제조된 제품에서 살생물 물질만을 제외한 시료를 음성대조군으로 설정하는 것이 바람직하나, 부득이한 경우 무처리군을 대조군으로 설정할 수 있다.

## 4.2 시험표면

### 4.2.1 표준시험표면

4.2.1.1 시험표면은 흡수성 표면과 비흡수성 표면으로 구분된다.

4.2.1.2 흡수성 표면은 미가공 목재, 비흡수성 표면은 유리를 표준 시험표면으로 한다.

4.2.1.3 미가공 목재에서 효과를 확인하는 경우 해당 살생물물질 및 살생물제품은 벽지, 유리, (별도처리하지 않은) 상용 강마루 및 장판에서도 충분한 효과를 갖고 있는 것으로 간주할 수 있다.

4.2.1.4 다만 위에서 언급되지 않은 재질의 표면을 사용방법에 지정하고자 하는 경우 해당 표면에 대한 별도의 시험을 통해 효과·효능을 평가하여야 한다.

4.2.1.5 살생물물질에 대한 실험실실험의 경우 여과지(filter paper)를 사용할 수 있으며, 여과지는 유리와 목재의 중간 정도의 효과를 나타내는 것으로 간주할 수 있다.

### 4.2.2 특정시험표면

4.2.2.1 유리, 강마루, 벽지, 장판, 및 미가공목재를 제외한 표면은 특정 시험표면으로 분류한다.

4.2.2.2 특정 시험표면은 바니시·페인트 등이 처리된 목재, 방충망, 카펫, 시멘트, 콘크리트 표면 등을 포함한다.

4.2.2.3 특히 목재의 코팅 방법에 따라 살생물물질 및 살생물제품의 부착성 및 흡수성에 큰 차이를 나타낼 수 있으며, 이는 효과·효능에 직접적인 영향을 줄 수 있다.

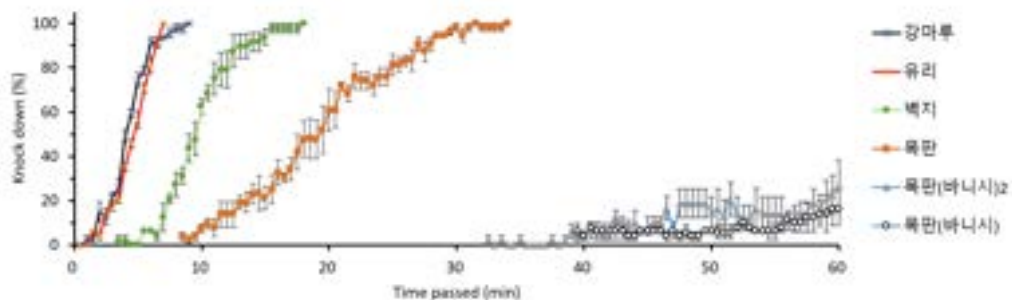


그림 2. 시험표면의 재질에 따른 녹다운 속도 차이 비교 예시

### 4.3 시험방법

#### 4.3.1 생물검정법

4.3.1.1 시험은 시험생물의 사육조건과 동일한 환경조건에서 진행하며, 일반적으로 시험생물이 가장 왕성하게 활동하는 온도·습도조건을 고려하여 시험환경을 설정한다.

4.3.1.2 시험물질 및 시험제품을 제시된 시험방법에 따라 시험표면에 균일하게 도포한다.

4.3.1.3 살생물제품은 라벨에 명시된 사용량에 따라 처리한다.

4.3.1.4 동일한 방법으로 대조군을 준비한다.

4.3.1.5 평가시료를 처리한 표면을 한 시간 이상 충분히 건조시킨 후 아래 기술된 시험방법에 따라 대상생물을 접촉시킨다.

4.3.1.6 일정 시간이 경과한 후 시험생물에 대한 노출을 종료하고 깨끗한 용기에 시험생물을 옮긴 뒤, 먹이와 수분을 공급하여 녹다운 및 치사율을 확인하는데, 부득이한 경우 혹은 종료시점까지 노출이 필요한 경우 별도의 용기로 이동 없이 그대로 둔 채로 최종 녹다운 및 치사율을 판정한다.

4.3.1.7 시험은 서로 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

#### 4.3.2 살생물물질의 여과지접촉 실험실시험

4.3.2.1 여과지접촉 실험실시험은 주로 살생물물질의 다양한 농도에 따른 시험생물의 반응을 관찰하는 목적으로 사용한다.

4.3.2.2 여과지접촉 실험실시험은 접촉을 통한 반수치사량 또는 농도(LD<sub>50</sub> 또는 LC<sub>50</sub>)를 판정한다.

4.3.2.3 용매에 녹여 준비한 살생물물질 시료를 지름 90 mm 여과지에 800 µL로 고르게 처리하고 일정 시간동안 건조한다.

4.3.2.4 용매가 완전히 휘산된 것을 확인한 이후, 시험생물 10개체를 이산화탄소 등으로 마취하여 90 mm 페트리디쉬에 투입하고 시료를 처리한 여과지를 올려 뚜껑을 닫는다.

4.3.2.5 페트리디쉬를 파라필름으로 밀봉하고 시험생물이 마취에서 깨어나면 페트리디쉬를 뒤집어 여과지가 바닥면을 향하도록 하여 접촉이 이루어지도록 한다.

4.3.2.6 24시간 뒤 치사 개체수를 확인한다.



그림 3. 여과지접촉 실험실시험 예시

#### 4.3.3 강제접촉 실험실시험

**4.3.3.1** 강제접촉 실험실시험은 주로 살생물제품에 실제 적용하고자 하는 최종 농도로 시험을 실시한다.

**4.3.3.2** 단일농도에서의 살생물물질 혹은 반제품 및 완제품의 살생물제품의 평가에서는 시간에 따른 녹다운 등의 시험생물의 반응을 관찰하여 반수녹다운시간( $KT_{50}$ )을 판정하며, 접촉 종료시점에서의 최종 녹다운율 및 시험 종료시점에서의 최종 치사율을 판정한다.

**4.3.3.3** 준비된 시험표면의 중앙에 선을 그어 표면을 반으로 구분하여 처리구역과 미처리구역을 설정한다.

**4.3.3.4** 평가하고자 하는 살생물물질을 용매에 희석한 용액을 피펫과 스프레더 등을 이용하여 표시된 처리구역에 균일하게 도포하고, 용매가 완전히 휘산될 수 있도록 휘산성이 높은 용매의 경우 한 시간 이상, 유화제품인 경우 최대 24시간 동안 충분히 건조한다.

**4.3.3.5** 살생물물질은 표면이 흡수성 재질일 경우  $5 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ , 비흡수성 재질일 경우  $2.5 \mu\text{L}/\text{cm}^2$ 로 처리한다.

**4.3.3.6** 분제로 된 살생물물질은  $0.2 \sim 1.6 \text{ mg}/\text{cm}^2$ 로 처리한다.

**4.3.3.7** 지름 5~10 cm의 페트리디쉬를 시험용기로 사용하는 경우 일반적으로 처리당 10~20개체의 시험생물을 준비한다.

**4.3.3.8** 준비된 시험생물을 의료용 이산화탄소 등으로 마취하여 미처리구역에 배치하고 비커, 페트리디쉬 등의 용기로 덮어준다.

**4.3.3.9** 모든 개체가 마취에서 회복되어 정상활동을 하는 것을 확인한 이후 추가로 30분 이상 방치하여 주변 환경에 순응하도록 한다.

**4.3.3.10** 순응과정 이후 용기를 천천히 조심스럽게 처리구역으로 이동하여 시험생물이 살생물물질이 처리된 표면에 노출되도록 한다.

**4.3.3.11** 노출시작 이후 시험생물의 녹다운 반응을 1분 단위로 관찰하여 기록한다.

**4.3.3.12** 시험표면의 노출은 최대 1시간 동안 진행하며, 시험 시작 후 1시간이 경과한 시점에서 접촉을 종료한다.

**4.3.3.13** 접촉 종료 이후 녹다운 반응의 유무와 상관없이 모든 개체를 깨끗한 용기로 옮겨 충분한 먹이와 수분을 공급하고, 최종 치사율을 확인한다.

**4.3.3.14** 최종 치사율은 주로 노출 후 24시간 이후의 시점에서 관찰하며, 필요에 따라 48시간 이후의 일정 시점에서도 관찰할 수 있다.



그림 4. 미가공 목재에 대한 모기의 시험방법 예시

#### **4.3.4 살생물제품에 대한 모의사용시험**

**4.3.4.1** 살생물제품에 대한 효과·효능 시험에 있어서는 대상생물이 실제 환경에서 살생물제품에 노출되는 상황과 유사한 환경을 설정하여 평가를 진행하는 것이 중요하다.

**4.3.4.2** 포복곤충과 비행곤충의 행동방식 및 행동반경은 큰 차이를 갖고 있으며, 각 생물의 특성을 고려한 시험방법을 설계하여야 한다.

**4.3.4.3** 바퀴, 개미, 빈대 등의 포복곤충은 주로 은신처에 기거하다 먹이탐색, 흡혈활동

등을 위해 좁은 틈을 통해 기어나오는 습성이 있으므로 에벨링 박스 등을 이용해 시험을 진행한다.

**4.3.4.4** 약 30~100개체의 시험생물을 챔버 내부로 방사하며, 먹이와 수분을 제공하여 최소 24시간 이상 시험용기에 순응하도록 한다.

**4.3.4.5** 순응이 끝나면 사용방법 및 표준사용량에 따라 살생물제품을 표면에 처리하고 충분히 건조한 뒤 시험 공간에 설치한다.

**4.3.4.6** 설치 방법은 포복곤충의 행동습성을 고려하여 세부적으로 설계해야 한다.

**4.3.4.7** 예를 들어, 에벨링 박스의 통로 입구에만 살생물제품을 처리한 표면을 설치하여 시험생물이 활동을 위해 은신처에서 나오는 시점에서만 표면에 노출되도록 할 수 있다.

**4.3.4.8** 그림 5에 제시된 바와 같이, 에벨링 박스의 통로 입구(흰색 영역)에만 사용방법의 처리량을 기준으로 살생물제품을 처리하고, 해당 공간에 먹이 등의 유인물질을 제공하여 시험생물의 자연스러운 활동 중 노출을 유도할 수 있다.

**4.3.4.9** 시험 시작 후 매 24시간 경과 시점에서 치사 개체수를 기록하며, 시험은 최대 14일간 진행한다.



그림 5. 살생물제품의 접촉 모의사용시험의 예시

**4.3.4.10** 모기, 파리 등의 비행곤충의 경우 챔버를 이용해서 시험을 진행한다.

**4.3.4.11** 시험에 사용되는 챔버의 크기는 시험생물의 비행에 제약을 가하지 않을 정도로

충분한 크기여야 하며, 최소 피트-그래디 챔버( $1.8\text{ m} \times 1.8\text{ m} \times 1.8\text{ m}$ ) 이상이어야 한다.

**4.3.4.12** 본 시험에서는 살생물제품이 시험생물과 접촉을 통해 치사 효과를 가지는지를 평가하기 때문에, 훈증에 의한 효과를 배제하기 위하여 시험은 환기조건 하에서 진행되어야 한다.

**4.3.4.13** 환기구에 매쉬 등을 설치하여 환기 과정에서 시험생물이 탈출하지 않도록 하며, 공기의 흐름이 시험생물의 비행에 영향을 주지 않도록 적절히 조절한다.

**4.3.4.14** 또한, 시험생물이 활동하기에 충분한 환경조건을 유지하기 위하여 시험공간 내·외부의 온습도를 적절하게 유지하여야 한다.

**4.3.4.15** 챔버는 세척이 용이한 유리, 금속 등의 재질로 이루어지며, 벽면에는 결과를 확인할 수 있는 충분한 크기의 관찰창을 설치한다.

**4.3.4.16** 챔버의 한쪽 면에 시험표면을 설치한다.

**4.3.4.17** 해당 공간에서 반복적으로 시험을 진행하는 경우 이전 시험의 시험물질이 남아있을 가능성이 존재한다.

**4.3.4.18** 이를 대비하여 시험 전 약 10~20개체의 시험생물을 나일론 등과 같은 재질의 메쉬 케이지(약  $20\text{ cm} \times 20\text{ cm} \times 20\text{ cm}$ )에 투입하여 챔버에 설치하고 60분간 시험생물의 반응을 관찰한다.

**4.3.4.19** 관찰시간 이내에 시험생물의 독성반응이 나타나는 경우 시험을 중단하고 시험챔버를 다시 세척하며, 독성반응이 나타나지 않는 경우 케이지를 수거하고 시험을 실시한다.

**4.3.4.20** 제품에 제시된 사용방법을 따라 챔버에 평가제품을 처리한다.

**4.3.4.21** 처리 면적은 전체의 1/6을 넘지 않도록 하며, 처리 과정에서 대상 표면 이외의 면이 제품에 노출되지 않도록 주의한다.

**4.3.4.22** 제품을 시험표면에 처리한 이후 환기조건 하에서 충분히 건조한다.

4.3.4.23 약 30~50개체의 시험생물을 챔버 내부로 방사한다.

4.3.4.24 살생물제품이 처리된 환경에 시험생물을 바로 방사하는 방식이므로 시험생물을 의료용 이산화탄소 등을 이용한 마취 과정 없이 활동성을 가진 채로 투입해야 한다.

4.3.4.25 통기 환경으로 진행하는 시험조건이므로, 수분에 민감한 모기 등을 대상으로 평가하는 경우 가습기 등을 이용해 지속적으로 수분을 공급해 습도를 조절하거나 시험 공간 전체의 습도를 조절하도록 한다.

4.3.4.26 설정된 시험 종료 시점에서의 최종 치사율을 확인한다.

## 5.0 결과보고

### 5.1 계산

5.1.1 일반적으로 살생물물질의 치사 효과는 처리 후 24시간 경과 시점에서 결과를 기록하도록 하나, 대상생물 및 평가물질의 특성에 따라 48시간 혹은 72시간 후에 치사 효과를 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(예: 용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관 방법(예: 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 예: 5~30% 구간 내 약량 1개, 30~50% 구간 내 1개, 50~70% 구간 내 1개 및 70~95% 구간 내 1개 등).

**5.1.5** 강제접촉 시험에서는 시간에 따른 녹다운 개체수의 probit 분석을 통해 대상생물에 대한 반수녹다운시간(KT<sub>50</sub>)값을 판정할 수 있다.

**5.1.6** 살생물제품 모의사용시험의 경우 포복곤충에서는 최대 14일, 비행곤충에서는 최대 3일까지 시험을 진행한 이후 최종 치사율을 확인하며, 가능한 경우 시간에 따른 치사 개체 측정 결과의 probit 분석을 통해 대상생물에 대한 반수치사시간(LT<sub>50</sub>) 및 LT<sub>90</sub> 값을 판정할 수 있다.

## **5.2 결과의 표시**

**5.2.1** 살생물물질의 실험실시험에 있어서는 여과지접촉 시험의 통계자료(LD<sub>50</sub>값, 기울기값, 95% 신뢰한계 등)와 살생물제품에 실제 적용하고자 하는 최종 농도에 진행한 강제접촉 시험 통계자료(KT<sub>50</sub>값, 기울기값, 95% 신뢰한계 등) 및 최종 치사율 결과를 각 시험결과 원자료와 함께 제출한다.

**5.2.2** 살생물물질의 반수치사량 및 반수치사농도는 단위면적 혹은 단위 부피당 처리량으로 표현한다(예: µg/cm<sup>2</sup>, mL/L 등).

**5.2.3** 반제품 및 살생물제품의 강제접촉 실험실시험은 probit 분석에 따른 통계자료(KT<sub>50</sub>, 기울기값, 95% 신뢰한계 등)와 시험 종료 시점의 최종 치사율을 원자료와 함께 제출한다.

**5.2.4** 살생물제품의 모의사용시험은 가능한 경우 probit 분석에 따른 통계자료(LT<sub>50</sub>과 LT<sub>90</sub>값, 기울기값, 95% 신뢰한계 등)와 시험 종료 시점의 최종 치사율 및 시험에 사용된 시험생물의 개체수를 원자료와 함께 제출한다.

## 살충제 - 훈증시험방법

2022

## 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. 추가로 제품에서 일정 기간의 약효 지속성을 주장하는 경우 [살생물제품의 잔류효과 시험기준]을 참조하도록 한다.

## 2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

일반적으로 휘산 용기에 포함된 액상 또는 고상의 내용물이 별도의 전원이나 열원이 없이 휘발되며 약효를 발휘하는 살생물제품 및 이러한 제품의 유효성분으로 사용되는 살생물물질을 대상으로 하며, 모기향, 전자모기향 등과 같은 가열증산용 살생물제품은 가열증산시험방법에 따라 진행한다.

## 3.0 대상생물

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

## 4.0 시험절차

### 4.1 시험물질

#### 4.1.1 살생물물질

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

#### 4.1.2 살생물제품

4.1.2.1 완제품 형태의 살생물제품은 별도의 조작 없이 그대로 사용하며, 반제품 형태의 살생물제품은 시험 목적에 맞게 희석 등의 과정을 거쳐 준비한다.

4.1.2.2 실험실시험을 위해 담지체나 멤브레인 등에 함침된 제형은 제품을 개봉하고 내용물로 평가하거나, 담지 작업 이전의 반제품으로 사용할 수 있다.

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

#### 4.1.3 대조군

4.1.3.1 살생물물질을 평가하는 경우 살생물물질의 용해 및 희석에 사용된 동일한 용매를 음성대조군으로 사용한다.

4.1.3.2 해당 경우 용매에 의한 치사 효과가 발생하지 않음을 확인하여야 한다.

4.1.4 반제품 혹은 완제품 형태의 살생물제품에 대한 시험의 경우에는 동일한 방식으로 제조된 제품에서 살생물물질만을 제외한 시료를 음성대조군으로 설정하는 것이 바람직하나, 부득이한 경우 무처리군을 대조군으로 설정할 수 있다.

## 4.2 시험방법

### 4.2.1 생물검정법

4.2.1.1 시험은 시험생물의 사육조건과 동일한 환경조건에서 시행하며, 일반적으로 시험생물이 가장 왕성하게 활동하는 온도, 습도조건을 고려하여 시험환경을 설정한다.

4.2.1.2 본 시험에서는 시험생물이 살생물물질 및 살생물제품에 직접적인 접촉이 없는 상황에서의 치사 효과를 평가하는 것이 목적이므로, 시험과정에서 시험생물이 살생물제가 처리된 곳에 접촉하지 못하도록 시험기구를 설계하여야 한다.

4.2.1.3 일부 시험생물은 광조건의 영향으로 실제 환경과 다른 행동 반응을 보일 수 있으므로 시험생물의 습성을 고려하여 시험을 설계하도록 한다.

4.2.1.4 용매를 사용하는 경우 살생물물질 및 살생물제품의 휘산 속도에 영향을 줄 수 있으므로 처리된 표면에 용매가 남아있지 않도록 충분한 시간 동안 휘산을 진행하고 시험을 시작해야 한다.

4.2.1.5 시험은 서로 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

### 4.2.2 살생물물질의 실험실시험

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

4.2.2.2 플라스틱 용기를 사용하는 경우 약제간의 간섭을 피하기 위해 시험에 사용한 용기를 재사용하지 않도록 한다.

4.2.2.3 유리용기 등을 사용하는 경우 충분히 세척하고 에탄올, 아세톤 등의 용매를 사용하여 2차 세척함으로써 유효성분이 남아있지 않도록 한다.

4.2.2.4 시험물질을 여과지에 처리한다.

**4.2.2.5** 용매가 충분히 휘발된 이후 여과지를 대상생물이 포함된 소형용기와 함께 시험용기에 투입한다.

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

**4.2.2.7** 시험물질이 처리된 여과지가 벽면에 부착되는 경우 시험물질의 충분한 휘발에 방해가 될 수 있으므로, 실 등을 이용하여 용기 내에 매달아 놓는 등의 방식으로 용기와의 접촉을 최소화하도록 한다.

**4.2.2.8** 시험용기 내 습도가 낮은 경우 여과지 및 대상생물이 포함된 용기와 접촉하지 않는 위치에 물을 적신 거즈 등을 배치하여 습도를 높일 수 있다.

**4.2.2.9** 동일한 시험용기 또는 공간에서 반복시험 진행 시 시험물질이 남아있을 경우 등을 대비해 사용 전 독성반응을 관찰할 필요가 있다.

**4.2.2.10** 대상생물을 투입한 후 일정 시간동안 관찰했을 때 독성반응이 나타난다면, 시험을 중단하고 시험용기 또는 공간을 다시 세척하거나 교체해야 한다.



그림 6. 살생물물질의 훈증시험방법 예시

#### 4.2.3 살생물제품의 저장물해충에 대한 훈증 모의사용시험방법

**4.2.3.1** 제품이 목적하는 표준 사용공간 크기의 시험용기를 준비한다.

**4.2.3.2** 일반적으로 국내의 가정에서 사용하는 쌀통 등의 곡물저장용기는 10~20 kg의 용량을 갖고 있으며, 이를 고려하여 10 kg의 곡물을 투입할 수 있는 충분한 크기의 용기를 준비할 수 있다.

**4.2.3.3** 어리쌀바구미, 화랑곡나방 등 쌀을 가해하는 생물이 아닌 다른 종류의 곡물을 가해하는 생물을 대상으로 진행하는 시험에서는 해당 생물의 생활습성, 가해 장소 등을 고려하여 시험용기를 적절히 선정하도록 한다.

**4.2.3.4** 공기 순환이 가능하도록 양면에 망을 덧댄 약 50 mL 크기의 원통형 튜브에 어리쌀바구미 50개체를 15 g의 쌀과 함께 투입한다.

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

**4.2.3.6** 살생물제품에 사용되는 살생물물질의 종류에 따라 해당 살생물물질이 곡물에 흡수되어 살생물제품의 효과가 떨어지는 경우가 발생할 수 있다.

**4.2.3.7** 이에 저장물해충에 대한 훈증 모의사용시험은 용기 내에 곡물이 가득 찬 환경에서 진행하는 것이 필수적이다.

**4.2.3.8** 대상생물의 사육조건과 동일한 환경조건(주로  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ , 상대습도  $60\pm 10\%$ )에서 2주간 뚜껑을 열지 않고 보관한다.

**4.2.3.9** 평가 용기 내부의 습도가 너무 높은 경우에는 곰팡이 등의 미생물이 발생할 수 있으므로 유의한다.

**4.2.3.10** 미생물의 발생을 막기 위해 시험기간 중 수 일 간격으로 짧은 시간 동안 환기를 할 수 있다.

**4.2.4** 2주간 훈증보관이 완료된 이후 6개의 튜브를 수거하여 각 튜브별 대상생물의 생존 여부를 확인한다.

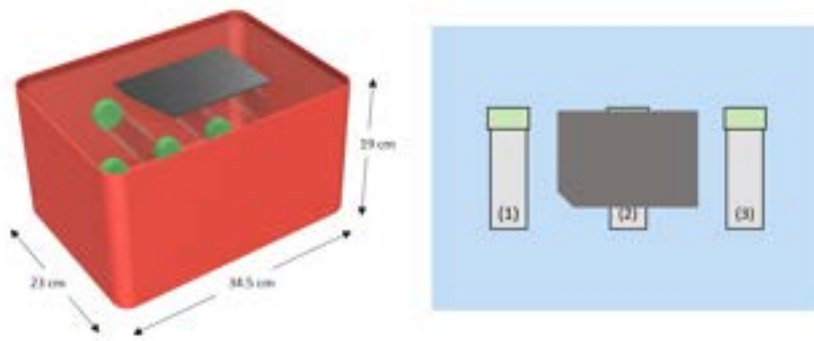


그림 7. 저장물해충의 훈증 모의사용시험방법의 예시

#### 4.2.5 살생물제품의 섬유가해해충에 대한 훈증 모의사용시험방법

4.2.5.1 제품이 목적하는 표준 사용공간 크기의 시험용기를 준비한다.

4.2.5.2 일반적으로 국내의 가정에서 사용하는 옷장은 약 500 L, 서랍장은 약 50 L 정도이다.

4.2.5.3 섬유가해해충의 평가에 있어서는 옷장 내에 투입하는 섬유의 종류, 양, 투입방식 등이 일정하지 않으며, 살생물물질 및 섬유의 종류에 따라 휘산된 살생물물질이 흡수되는 정도의 차이가 존재할 수 있으므로 표준화된 시험을 설계하기가 어렵다는 한계가 있다.

4.2.5.4 또한, 시험용기 내부에 투입된 섬유의 양에 따라 전체 공간의 크기가 줄어들어 효과가 증가할 수 있으며, 반대로 투입방식에 따라 살생물제품의 효과적인 확산에 방해줄 수 있다.

**4.2.5.5** 이에 본 시험에서는 섬유를 투입하지 않는 환경을 기준으로 평가하도록 하며, 필요에 따라 섬유를 투입한 환경을 추가로 진행할 수 있다.

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

**4.2.5.7** 시험용기 내부에 해당 시험공간을 세로로 2등분 혹은 3등분하고 각 지점에 선반 등을 부착하여 대상생물이 포함된 페트리디쉬를 배치한다.

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

**4.2.5.9** 제품을 개봉하여 실제 사용하는 형태와 유사하게 배치하고, 시험용기를 밀봉한다.

**4.2.5.10** 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.

**4.2.5.11** 평가 용기 내부의 습도가 너무 높은 경우에는 곰팡이 등의 미생물이 발생할 수 있으므로 유의한다.

**4.2.5.12** 2주간 훈증보관이 완료된 이후 배치한 대상생물 보관용기를 회수하여 각 시험군별 대상생물의 생존 여부를 평가한다.

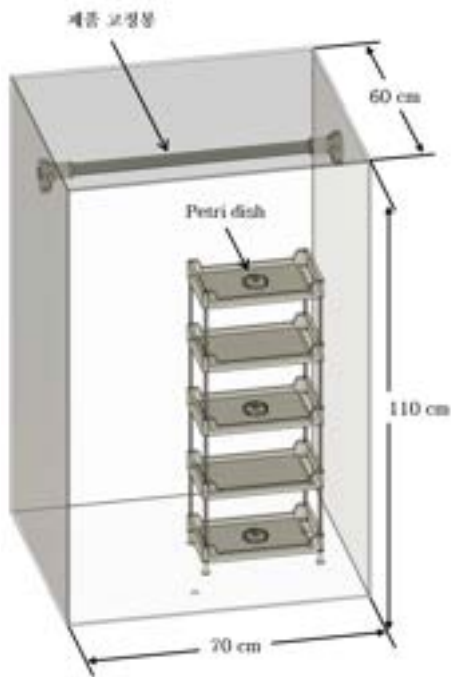


그림 8. 섬유가해해충의 혼증 모의사용시험방법의 예시

## 5.0 결과보고

### 5.1 계산

5.1.1 일반적으로 살생물물질의 치사 효과는 처리 후 24시간 경과 시점에서 결과를 기록하도록 하나, 대상생물 및 평가물질의 특성에 따라 48시간 혹은 72시간의 치사 효과를 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(예: 용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관

방법(예: 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 예: 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 훈증시험방법을 실시하는 경우, 처리 농도에 따른 치사 효과를 판정하거나 경우에 따라서는 단일 처리농도에 따른 녹다운 효과를 변화 정도를 측정하여 probit 분석을 진행한다.

**5.1.6** 살생물제품의 모의사용시험을 실시한 경우, 투입 후 최대 14일이 경과된 시점에서 시험을 종료하고 최종 치사 개체수를 확인한다.

## **5.2 결과의 표시**

**5.2.1** 살생물물질의 시험에 대해서는 probit 분석에 따른 통계자료( $LC_{50}$ 과  $LC_{90}$ 값, 기울기값, 95% 신뢰한계 등)와 농도별 시험결과 원자료를 함께 제출한다.

**5.2.2** 살생물제품의 실험실시험에 있어서는 probit 분석에 따른 통계자료( $LC_{50}$ 과  $LC_{90}$ 값 또는  $KT_{50}$ 과  $KT_{90}$ 값, 기울기값, 95% 신뢰한계)와 시험 종료 시점의 치사율 결과를 원자료와 함께 제출한다.

**5.2.3** 반수치사농도는 단위부피당 농도로 표현한다(예:  $\mu\text{g/mL air}$ ,  $\text{mg/L air}$  등).

**5.2.4** 살생물제품의 모의사용시험은 시험 종료 시점의 치사율 결과를 원자료와 함께 제출한다.

## 살충제 - 직접분사시험방법

2022

### 1.0 개요

본 시험방법은 살생물제를 대상생물에 직접 분사하여 처리하였을 때의 효과를 평가하는 방법이다. 해충에 대해 직접 분사한다는 표현이 라벨에 기재된 경우 본 시험방법을 사용한다.

### 2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

액상 분무제, 에어로졸과 같이 압축된 공기 혹은 추진제에 의해 유효성분이 분무되는 제형의 살생물제품 및 이러한 제품의 유효성분으로 사용되는 살생물물질을 대상으로 한다.

### 3.0 대상생물

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

### 4.0 시험절차

#### 4.1 시험물질

##### 4.1.1 살생물물질

4.1.1.1 살생물물질은 에탄올, 아세톤 등과 같이 휘발성이 높은 용매에 녹여 사용하거나

액상의 경우 그대로 사용할 수 있다.

**4.1.1.2** 또한, 물과 계면활성제를 이용해 휘산성이 낮은 유제 형태의 시료도 사용이 가능하다.

**4.1.1.3** 살생물물질의 분사를 위해 준비한 용액을 분무기 또는 추진제와 함께 에어로졸 용기에 투입하여 준비한다.

#### **4.1.2 살생물제품**

**4.1.2.1** 분무제, 에어로졸 등의 완제품 형태의 살생물제품은 별도의 조작 없이 그대로 사용하며, 반제품 형태의 살생물제품은 시험 목적에 맞게 희석 등의 과정을 거쳐 준비한다.

#### **4.1.3 대조군**

**4.1.3.1** 살생물물질을 평가하는 경우 살생물물질의 용해 및 희석에 사용된 동일한 용매를 음성대조군으로 사용한다.

**4.1.3.2** 해당 경우 시험생물이 용매에 의한 치사 효과가 발생하지 않음을 확인하여야 한다.

**4.1.3.3** 반제품 혹은 완제품 형태의 살생물제품에 대한 시험의 경우 제품에 포함된 용매 및 유화제 등이 제품의 효과에 영향을 줄 수 있다.

**4.1.3.4** 살생물제품의 평가에 대해서는 동일한 방식으로 제조된 제품에서 살생물 물질만을 제외한 시료를 음성대조군으로 설정하는 것이 바람직하나, 부득이한 경우 무처리군을 대조군으로 설정할 수 있다.

#### **4.2 시험용기**

**4.2.1** 위아래에 망을 덧댄 플라스틱, 유리, 스테인리스 재질의 용기 혹은 전체가 메쉬로 된 원기둥 혹은 직육면체 형태의 용기를 준비한다.

**4.2.2** 용기의 크기는 대상생물의 크기, 행동습성 등에 따라 다양하게 선정할 수 있으나, 시험생물의 비행, 포복 등의 행동에 제약을 주지 않아야 한다.

**4.2.3** 원기둥 형태의 용기인 경우 용기의 높이는 5~10 cm 정도가 적절하고, 용기의 지름은 평가 제품의 분사 폭에 따라 결정하며, 최소 7 cm 이상으로 한다.

**4.2.4** 메쉬의 크기는 대상생물의 탈출을 막을 수 있으면서 평가하고자 하는 제품의 흐름을 방해하지 않아야 하며 분사된 용액이 용기에 남아있지 않고 통과할 수 있어야 한다.

**4.2.5** 플라스틱 용기를 사용하는 경우 약제간의 간섭을 피하기 위해 시험에 사용한 용기를 재사용하지 않도록 한다.

**4.2.6** 유리용기 등을 사용하는 경우 충분히 세척하고 에탄올, 아세톤 등의 용매를 사용하여 2차 세척함으로써 유효성분이 남아있지 않도록 한다.

### 4.3 시험방법

#### 4.3.1 생물검정법

**4.3.1.1** 시험용기 내에 약 10~20개체의 대상생물을 투입하여 준비하며, 시험생물 및 용기의 크기에 따라 조절이 가능하다.

**4.3.1.2** 시험 전 용기에 넣은 시험생물의 반응을 30분 이상 관찰하며 용기에 남아있는 시험물질에 대한 영향이 없음을 확인하고 시험을 시작한다.

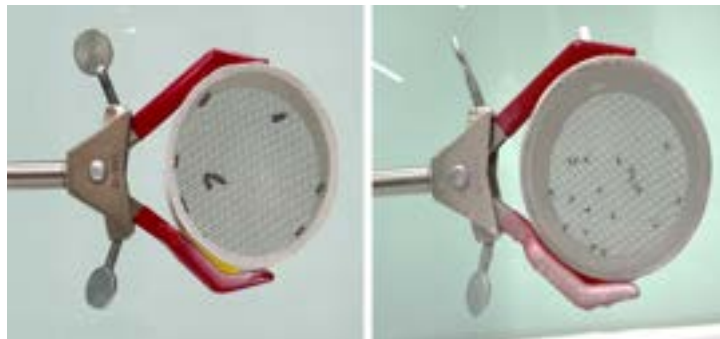


그림 9. 직접분사시험의 시험생물의 준비 예시

4.3.1.3 시험자의 안전을 위해 후드가 장착된 공간에서 시험을 시행하도록 한다.

4.3.1.4 시험생물이 투입된 시험용기를 집게 등을 이용해 고정한다.

4.3.1.5 포복곤충 등을 대상으로 수직으로 분사할 때는 분사된 시료가 통과할 수 있도록 시험용기를 바닥에서부터 10 cm 이상 띄워서 설치한다.

4.3.1.6 설정된 거리에 분사기를 설치한다.

4.3.1.7 분사기를 장치 등에 설치하는 것이 용이하지 않은 경우 시험자가 분사기를 손에 들고 처리할 수 있으나, 설정된 거리보다 짧은 거리에서 처리하지 않도록 주의한다.

4.3.1.8 설정된 거리에서 시험용기를 향해 지정된 처리량(시간, 횟수) 만큼 시료를 분사한다.

4.3.1.9 정확한 분사량을 확보하기 위해 타이머가 부착된 분사장치 등을 사용하도록 하며, 부득이한 경우 분사시간을 측정할 수 있도록 타이머로 분사시간을 측정하면서 시험자가 직접 분사한다.



그림 10. 직접분사시험의 분사방법 예시

4.3.1.10 분사 후 분 단위로 시험생물의 반응을 관찰하여 기록한다.

**4.3.1.11** 분사 후 15분이 경과한 시점에서 대상생물을 깨끗한 용기로 옮겨주고, 먹이와 수분을 공급하여 24시간 이후의 최종 치사율을 확인한다.

**4.3.1.12** 시험은 서로 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

**4.3.1.13** 에어로졸 제형의 경우 사용에 따라 제품 내부의 압력이 감소하며 단위시간당 분사량이 변하므로 시험마다 새로운 제품을 사용해야 한다.

**4.3.1.14** 분사시험 전후 용기의 무게변화를 측정하여 분사량 실측값을 녹다운, 치사율 결과와 함께 보고한다.

#### **4.3.2 살생물물질에 대한 실험실시험**

**4.3.2.1** 일반적으로 분무제 및 에어로졸 제형은 살생물물질이 가진 고유의 효과 뿐만 아니라 용매 및 분사기구의 물리적 작동방식 차이가 살생물제품의 최종적인 효과·효능에 직접적인 영향을 줄 수 있다.

**4.3.2.2** 이에 따라 분무제 및 에어로졸에 사용되는 살생물물질의 살생물기능은 미량 국소처리시험방법, 접촉시험방법 등을 통해서도 평가할 수 있다.

**4.3.2.3** 시험생물의 습성, 살생물물질 및 제형의 종류에 따라 예비시험을 통해 적절한 분사거리와 분사방향을 선정하여 시험을 실시한다.

**4.3.2.4** 일반적으로, 에어로졸 제형의 실험실시험의 경우 40~50 cm 거리에서 시험을 시행하며, 추진제가 없는 분무형 제형의 경우 이보다 짧은 거리에서 시험을 진행할 수 있다.

#### **4.3.3 살생물제품에 대한 모의사용시험**

**4.3.3.1** 살생물제품의 모의사용시험에 있어 분사거리와 분사량은 제품의 라벨에 기재된 정보를 바탕으로 설정한다.

**4.3.3.2** 분사거리는 라벨에서 지정된 내용에 따라 가장 먼 거리에서 분사한다(예: 제품의

라벨에 지정된 분사거리가 50~70 cm인 경우 70 cm 거리에서 시험을 진행한다).

**4.3.3.3** 분사량은 라벨에서 지정된 내용에 따라 가장 적은 양을 분사한다(예: 제품의 라벨에 지정된 분사횟수가 2~4회 인 경우 2회, 분사시간이 1~2초인 경우 1초간 분사한다).

## 5.0 결과보고

### 5.1 계산

**5.1.1** 처리 후 24시간 경과 시점에서의 치사 효과를 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(예: 용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관 방법(예: 적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

**5.1.4** 시간에 따른 녹다운 개체수를 probit 분석하여 반수녹다운 시간(KT<sub>50</sub>)과 KT<sub>90</sub>값을 판정한다.

### 5.2 결과의 표시

**5.2.1** Probit 분석에 따른 통계자료(KT<sub>50</sub>과 KT<sub>90</sub>값, 기울기값, 95% 신뢰한계 등)와 최종 치사율 결과 및 분사량을 원자료와 함께 제출한다.

**5.2.2** 전체 개체가 녹다운되는데 걸린 시간이 1분 내외로 매우 짧아 시간에 따른 개체군의 반응을 정확히 판정하기 어려운 경우  $KT_{50}$ 값과  $KT_{90}$ 값은 1분 이내로 판정 할 수 있으며, 모든 개체가 녹다운 되는데 걸린 시간을 보고하는 것으로 Probit 분석에 따른 통계자료를 갈음할 수 있다.

## 살충제 - 공간분사시험방법

2022

## 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. 살생물제품의 라벨에 일정 공간에 대해 제품을 처리하도록 명시된 경우 본 시험방법을 통해 효과를 평가하도록 한다.

## 2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

액상 분무제, 에어로졸과 같이 압축된 공기 혹은 추진제에 의해 유효성분이 분무되는 제형을 비롯해 일정 배율로 희석해서 처리하는 희석용 유제 및 이러한 제품의 유효성분으로 사용되는 살생물물질을 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 살생물물질 및 살생물제품 대한 실험실시험

4.1.1.1 시험에 사용되는 장치는 부피  $0.5 \text{ m}^3$  ( $63 \times 63 \times 125 \text{ cm}$ , W×D×H) 정도의 세척이 용이한 유리 또는 투명 플라스틱 재질의 상자를 사용한다.

4.1.1.2 장치에는 시료를 분사하기 위한 분사구 및 대상생물 투입구가 있다.

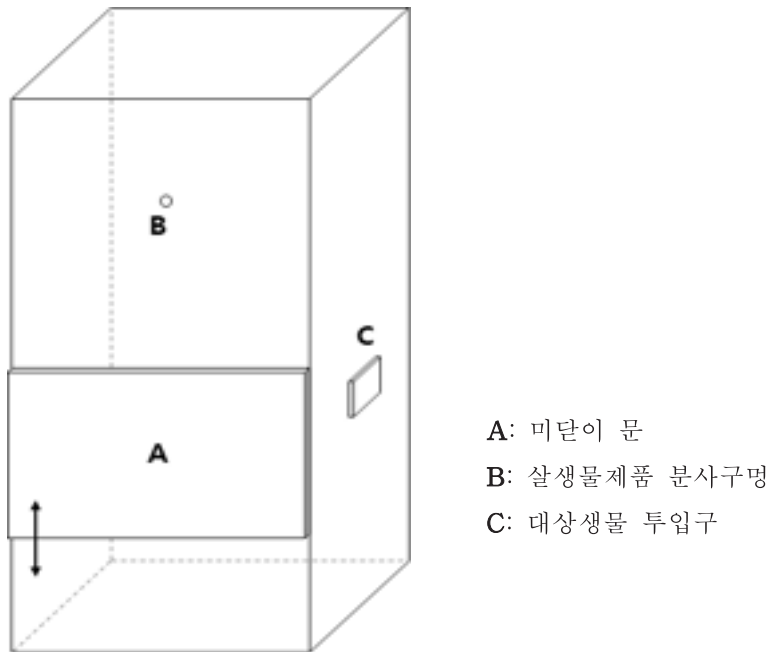


그림 11. 공간분사시험방법 기구 모식도

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

#### 4.1.2 살생물제품에 대한 모의사용시험

4.1.2.1 살생물제품의 모의사용시험을 위한 시험공간은 제품의 라벨에 표시된 크기와 동일한 환경에서 진행하는 것이 바람직하나, 부득이한 경우 사용량 및 적용 면적의 비율을 유지하면서 지정된 크기보다 작은 공간에서 시행할 수 있다.

4.1.2.2 다만 시험공간의 크기는 WHO에서 제시된 피트-그래디 챔버( $1.8 \text{ m} \times 1.8 \text{ m} \times 1.8 \text{ m}$ )보다 작을 수는 없다.

## **4.2 시험물질**

### **4.2.1 살생물물질**

**4.2.1.1** 살생물물질은 에탄올, 아세톤 등과 같이 휘발성이 높은 용매에 녹여 사용하거나 물과 계면활성제를 이용한 유화 형태로 준비할 수 있다.

**4.2.1.2** 살생물물질의 공간 내 분사를 위해 준비한 용액을 분무기 또는 추진제와 함께 에어로졸 용기에 투입하여 시료를 준비한다.

### **4.2.2 살생물제품**

**4.2.2.1** 에어로졸 제형의 살생물제품은 별도의 조작 없이 그대로 사용한다.

**4.2.2.2** 희석용 제품의 경우 제품의 라벨에 지정된 대상생물 및 농도에 따라 적절히 희석한다.

**4.2.2.3** 라벨에 기재된 적용공간보다 작은 공간에서 시험을 수행하는 경우 추가적인 희석을 실시하며, 계산의 근거를 시험결과 보고 시 함께 제시한다.

### **4.2.3 대조군**

**4.2.3.1** 살생물물질을 평가하는 경우 살생물물질의 용해 및 희석에 사용된 동일한 용매를 음성대조군으로 사용한다.

**4.2.3.2** 해당 경우 시험생물이 용매에 의한 치사 효과가 발생하지 않음을 확인하여야 한다.

**4.2.3.3** 반제품 혹은 완제품 형태의 살생물제품에 대한 시험의 경우 제품에 포함된 용매 및 유화제 등이 제품의 효과에 영향을 줄 수 있다.

**4.2.3.4** 살생물제품의 평가에 대해서는 동일한 방식으로 제조된 제품에서 살생물 물질만을 제외한 시료를 음성대조군으로 설정하는 것이 바람직하나, 부득이한 경우

무처리군을 대조군으로 설정할 수 있다.

### **4.3 시험방법**

#### **4.3.1 생물검정법**

**4.3.1.1** 시험 전 시험용기를 충분히 세척한다.

**4.3.1.2** 메쉬로 된 작은 용기에 10~20개체의 시험생물을 넣어 준비하고 시험공간 내부로 투입하여 30분 이상 방치하여 순응하도록 한다.

**4.3.1.3** 순응과정에서 시험생물이 이전 시험의 약제에 대한 영향이 없는지 확인하도록 하며, 독성반응이 나타나는 경우 즉시 시험을 종료하고 시험용기를 세척한다.

**4.3.1.4** 분사 후 시험생물을 투입하는 경우라면 시험생물을 넣은 메쉬 용기를 순응 종료 후 다시 회수한 뒤 시험을 실시한다.

**4.3.1.5** 지정된 처리량을 근거로 시료를 시험공간 내부로 분사한다.

**4.3.1.6** 대상생물이 시료에 노출된 이후 일정 시간 간격으로 반응을 관찰한다.

**4.3.1.7** 집먼지진드기와 같이 크기가 작은 생물종을 대상으로 시험을 진행하여 개체별 녹다운 효과를 육안으로 판별하는 것이 불가능한 경우 최종 치사율만을 관찰할 수 있다.

**4.3.1.8** 시험 종료 시점에서 시험공간을 즉시 환기하여 시험을 종료하며, 시험생물을 수거하여 깨끗한 용기로 옮겨주고, 먹이와 수분을 공급하여 최종 치사율을 확인한다.

**4.3.1.9** 시험은 서로 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

#### **4.3.2 살생물물질 및 살생물제품에 대한 실험실시험**

**4.3.2.1** 시험생물의 습성, 살생물물질 및 제형의 종류에 따라 예비시험을 통해 적절한 분사거리와 분사방향을 선정하여 시험을 실시한다.

**4.3.2.2** 시험공간의 크기와 시험방법에 따라 시험생물을 공간 내로 직접 방사하여 자유롭게 활동하도록 할 수 있으며, 공간이 큰 경우 별도의 메쉬 케이지에 일정 개체수의 시험생물을 투입한 후 시험공간 내부에 위치하여 시험을 진행한다.

**4.3.2.3** 예비시험을 통해 시험 종료 시점까지 모든 시험생물이 녹다운 되지 않는 것이 확인되었다면, 비행 중인 시험생물을 별도의 용기로 옮겨 담는 것이 불가능하므로, 본 시험 시 별도의 케이지를 사용해서 진행해야 한다.

**4.3.2.4** 목적하는 살생물제품의 사용방법을 참조하여 분사방법과 분사량을 결정하여 이를 기준으로 시료를 처리한다.

**4.3.2.5** 일정 시간 간격으로 녹다운 반응을 관찰하여 기록하며, 시작 후 1시간 시점에서 즉시 시험공간을 환기하여 시험을 종료한다.

**4.3.2.6** 시험이 종료된 이후 시험생물을 깨끗한 용기로 옮겨주고, 먹이와 물을 공급하여 최종 치사율을 확인한다.

### **4.3.3 살생물제품에 대한 모의사용시험**

**4.3.3.1** 살생물제품에 대한 시험은 제품의 라벨에 기재된 표준사용량을 바탕으로 분사량을 결정한다.

**4.3.3.2** 분사량은 라벨에서 지정된 내용에 따라 가장 적은 양을 분사한다(예: 제품의 라벨에 지정된 분사횟수가 2~4회 인 경우 2회, 분사시간이 1~2초인 경우 1초간 분사한다).

**4.3.3.3** 희석배율이 지정된 제품의 경우 시험공간 및 라벨의 기재 사항을 근거로 적절히 희석하여 처리한다.

**4.3.3.4** 실험실시험에 비해 모의사용시험의 시험공간 크기가 크기 때문에, 메쉬로 된 케이지에 10~20 개체의 시험생물을 투입하여 시험을 진행하되, 예비시험에서 1시간 이내에 충분한 녹다운 효과가 확인된 경우, 그리고 시험 개시 및 종료 시점에서 시험생물의 탈출 우려가 없는 경우에는 필요에 따라 별도의 케이지 없이 시험공간 내부로 시험생물을 직접 투입할 수 있다.



그림 12. 공간분사시험방법의 예시

**4.3.3.5** 시험생물을 시험공간 내부로 직접 투입하는 경우 50~100 개체의 시험생물을 투입한다.

**4.3.3.6** 모기, 파리의 경우 암컷 성충만을 사용하며, 바퀴의 경우 성별과 상관없이 개체수를 기준으로 시험을 진행한다.

**4.3.3.7** 실험실시험과 마찬가지로 시험 전 시험공간에 잔류하는 약제에 의한 시험생물의 영향이 없음을 확인하여야 한다.

**4.3.3.8** 대상생물이 살생물제품에 노출된 후 일정 시간 간격으로 녹다운을 관찰하며, 시작 후 1시간 시점에서 즉시 시험공간을 환기하여 시험을 종료한다.

**4.3.3.9** 시험이 종료된 이후 대상생물을 깨끗한 용기로 옮겨주고, 먹이와 수분을 공급하여 최종 치사율을 확인한다.

## 5.0 결과보고

### 5.1 계산

**5.1.1** 처리 후 24시간 경과 시점에서의 치사 효과를 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(예: 용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관 방법(예: 적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

**5.1.4** 실험실시험의 경우 시간에 따른 녹다운 개체수를 probit 분석하여 반수녹다운 시간(KT<sub>50</sub>)을 판정한다.

## **5.2 결과의 표시**

**5.2.1** 실험실시험의 경우 probit 분석에 따른 통계자료(KT<sub>50</sub>값, 기울기값, 95% 신뢰한계 등)와 24시간 경과 시점의 치사 효과 및 분사량 정보를 원자료와 함께 제출한다.

**5.2.2** 모의사용시험의 경우 최종 녹다운 결과와 24시간 경과 시점의 치사 효과 및 분사량 정보를 원자료와 함께 제출한다.

## 살충제 - 수중처리시험방법

2022

### 1.0 개요

본 시험방법은 발달단계 중 수서 생활을 포함하는 대상생물에 대해서 살생물제를 수중 처리하여 치사 효과를 평가하는 방법이다. 추가로 제품에서 일정 기간의 약효 지속성을 주장하는 경우 [살생물제품의 잔류효과 시험기준]을 참조하도록 한다.

### 2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

수계에 처리하는 용도의 유제(乳劑), 수화제, 현탁제 등과 같은 살생물제품의 반제품 혹은 완제품 및 이러한 제품의 유효성분으로 사용되는 살생물물질을 대상으로 한다.

### 3.0 대상생물

이 시험방법은 모기 유충을 주요 대상으로 한다.

### 4.0 시험절차

#### 4.1 시험물질

##### 4.1.1 살생물물질

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

4.1.1.2 수용성을 높이기 위해 계면활성제 등을 추가로 투입하여 제조할 수 있다.

#### 4.1.2 살생물제품

4.1.2.1 완제품 형태의 살생물제품은 별도의 조작 없이 그대로 사용하며, 반제품 형태의 살생물제품은 시험 목적에 맞게 희석 등의 과정을 거쳐 준비한다.

4.1.2.2 시험공간의 크기가 제품의 라벨에서 주장하는 적용공간보다 작은 경우 과립, 유제 등과 같이 용량의 조절이 용이하다면 공간 크기의 비율에 따라 투입량을 조절할 수 있다.

4.1.2.3 정제와 같이 직접적인 용량 조절이 어려운 경우 별도의 용기에서 1차 용해를 진행한 후에 시험용기로 희석배율을 계산하여 투입한다.

4.1.2.4 별도의 용해과정을 거치는 경우 살생물제품이 완전히 용해된 것을 확인하여야 한다.

#### 4.1.3 대조군

4.1.3.1 살생물물질을 평가하는 경우 살생물물질의 용해 및 희석에 사용된 동일한 용매를 음성대조군으로 사용한다.

4.1.3.2 해당 경우 시험생물이 용매에 의한 치사 효과가 발생하지 않음을 확인하여야 한다.

4.1.3.3 반제품 혹은 완제품 형태의 살생물제품에 대한 시험의 경우 제품에 포함된 용매 및 유화제 등이 제품의 효과에 영향을 줄 수 있다.

4.1.3.4 살생물제품의 평가에 대해서는 동일한 방식으로 제조된 제품에서 살생물 물질만을 제외한 시료를 음성대조군으로 설정하는 것이 바람직하나, 부득이한 경우 무처리군을 대조군으로 설정할 수 있다.

## 4.2 시험방법

### 4.2.1 생물검정법

4.2.1.1 시험에 사용하는 물은 증류수, 순도가 높은 물, 받아놓고 하루 이상 경과한 수돗물 등을 이용하여 진행하며, 염소가 포함된 수돗물은 사용하지 않는다.

4.2.1.2 외부에서 채집한 시험생물을 대상으로 평가를 진행하는 경우 해당 채집지의 물을 사용하여 시험을 수행한다.

4.2.1.3 용기의 크기, 특히 물의 깊이가 필요 이상으로 증가하는 경우 모기의 수계 이동거리 증가로 치사율이 증가하게 되므로 물의 높이는 10 cm를 넘지 않도록 해야 한다.

4.2.1.4 일반적인 유충살충제의 평가에 있어 모기는 주로 3~4령의 유충을 대상으로 평가를 시행한다.

4.2.1.5 곤충성장조절제(Insect Growth Regulator, IGR)를 이용한 시험에서는 약제의 특성을 고려한 정확한 발육 단계를 선정하여 시험을 수행하도록 한다.

4.2.1.6 각 시험용기의 크기와 발달단계를 고려하여 시험생물을 물이 들어있는 용기에 투입한다.

4.2.1.7 시험용기의 크기 및 물 투입량이 많은 경우 필요에 따라 기포발생기를 사용하여 시험용액 내부로 공기를 주입하도록 한다.

4.2.1.8 준비한 시료를 시험방법에 따라 용기에 처리하고 먹이를 급여한다.

4.2.1.9 동족포식을 억제하기 위한 목적으로 먹이를 과다 투입하는 경우 치사율에 영향을 줄 수 있으므로 주의한다.

4.2.1.10 시험 시작 후 24시간 경과 시점에서 최종 치사율을 확인하며, 경우에 따라 48시간 혹은 72시간에서 시험을 종료할 수 있다.

4.2.1.11 곤충성장조절제의 경우 대조군의 우화율이 80% 이상일 때 시험을 종료한다.

4.2.1.12 시험용기 외부로 가볍게 건드려 진동을 주었을 때 하강 후 올라오지 못하거나 반응하지 않고 바닥에 가라앉아 있는 모기 유충은 사멸한 것으로 간주한다.

4.2.1.13 치사율 관찰 시점에서 투입 개체수 대비 총 개체수가 감소한 것을 확인한 경우, 사라진 개체는 사멸 후 동족포식(cannibalism)에 의해 섭취된 것으로 판정하여 치사 개체에 포함하도록 한다.

4.2.1.14 치사 효과 확인 시 용화된 개체는 전체 수에서 제외한다.

4.2.1.15 우화 후 수면에서 바로 치사하는 경우 우화에 실패한 것으로 간주한다.

4.2.1.16 장기간 시험을 진행하는 경우 용기 외부 벽면에 미리 수면의 높이를 표시하고 해당 표시보다 낮아진 경우 증발한 양과 동일한 물을 보충해주어 농도를 유지할 수 있다.

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

#### 4.2.2 수중처리 실험실시험

4.2.2.1 용액 200 mL를 기준으로 살생물물질에 대한 실험실시험을 시행한다.

4.2.2.2 시험구당 약 10~20개체의 시험생물을 비커, 종이컵 등의 용기에 199 mL의 물과 함께 투입한다.

4.2.2.3 유충을 투입할 때는 물을 최대한 제거하여 불필요한 물의 유입이 최소화 될 수 있도록 한다.

4.2.2.4 시험물질을 용매에 희석한 시험용액 1 mL를 투입하여 최종 용량이 200 mL가 되도록 한다.

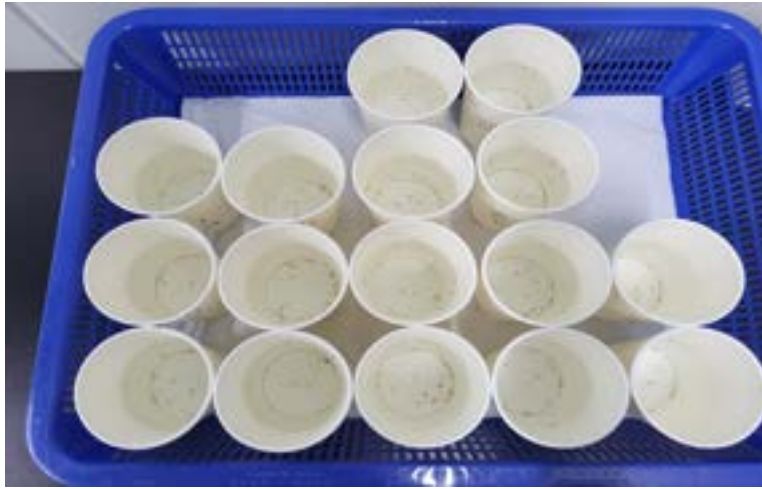


그림 13. 수중처리 실험실시험의 예시

**4.2.2.5** 시험물질을 대량의 물에 희석하여 시험용액을 만든 뒤 200 mL 씩 나눠 담아 시험 곤충을 투입하는 방식으로 진행할 수 있다.

**4.2.2.6** 분쇄한 송아지 사료, 금붕어 사료 등 시험생물의 사육에 사용되는 먹이를 물 200 mL에 20개체를 투입한 기준으로 하루당 약 10 mg의 비율로 급여한다.

**4.2.2.7** 곤충 성장 조절제의 경우 우화한 성충의 탈출을 방지하기 위해 용기 상단을 망으로 덮어주어야 한다.

**4.2.2.8** 시험 종료 시점에서의 최종 치사율 또는 곤충성장조절제의 경우 우화율을 확인한다.

### 4.2.3 수중처리 모의사용 일반시험방법

**4.2.3.1** 바닥 면적이 20 cm × 20 cm 이상인 용기에 깊이가 10 cm를 넘지 않도록 물을 채우고 20~30개체의 시험생물을 투입한다.

**4.2.3.2** 라벨에 기재된 사용방법 및 표준사용량에 근거해 적정 약량을 계산하여 물에 골고루 투입하되, 임의로 혼합하지 않는다.

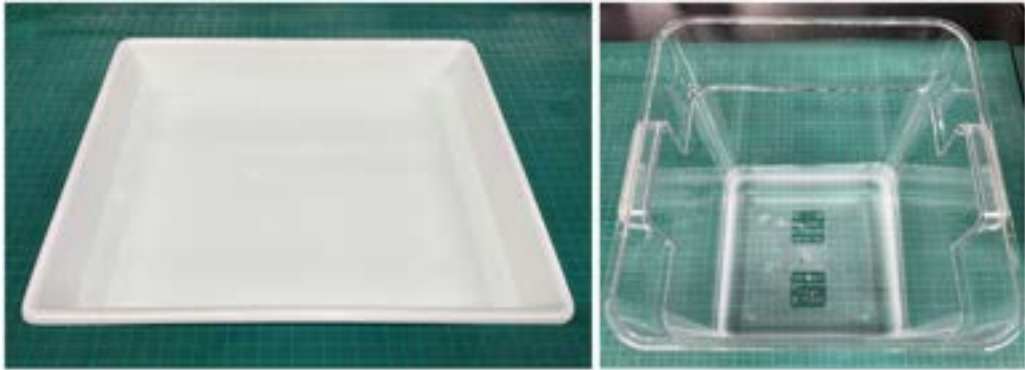


그림 14. 모의사용시험방법의 시험용기 예시

**4.2.3.3** 시험 종료 시점에서의 최종 치사율 또는 곤충성장조절제의 경우 우화율을 확인한다.

**4.2.3.4** 용화한 번데기들을 별도의 용기에 모아 10% 설탕물을 제공한 케이지에 넣는 방법으로도 우화율을 확인할 수 있다.

**4.2.3.5** 별도의 용기에 용화한 번데기를 옮겨 담은 경우 우화에 제약이 없을 정도의 충분한 양의 시험용액과 함께 옮겨주어야 한다.

#### **4.2.4 수중처리 모의사용 특수시험방법(수면 부상성)**

**4.2.4.1** 모기 유충 등의 구제를 목적으로 하는 살생물물질은 물질의 특성에 따라 용액 전체에 고르게 희석되어 치사 효과를 나타내는 경우, 수면 근처에 성분이 집중되어 호흡을 위해 수면으로 올라오는 대상생물에만 영향을 주는 경우, 수면에 유막 등을 형성하여 물리적으로 호흡을 방해하여 치사하는 경우 등 다양한 방식의 살생물기능이 제시되어 있다.

**4.2.4.2** 수중처리제품의 모의사용시험은 해당 물질의 특성을 고려한 시험방법의 설계가 필요하며, 비교시험을 통해 제품에서 주장하는 특정한 효과에 대한 근거자료를 마련할 수 있어야 한다.

**4.2.4.3** 예를 들어, 수면 상부에만 성분이 집중되어 용액 내 농도구배가 발생한다고 주장하는 경우, 모의사용 일반시험 결과와 더불어 동일 표면적의 용기에 투입된 물

부피가 증가하여 최종농도가 감소하는 경우에도 동일한 치사 효과를 확보할 수 있음을 추가적으로 증명하여야 한다.

**4.2.4.4** 부상성이 확인된 제품은 표준사용량을 농도가 아닌 단위면적당 약량으로 기재하도록 한다(예:  $0.1 \text{ g/m}^2$ ).

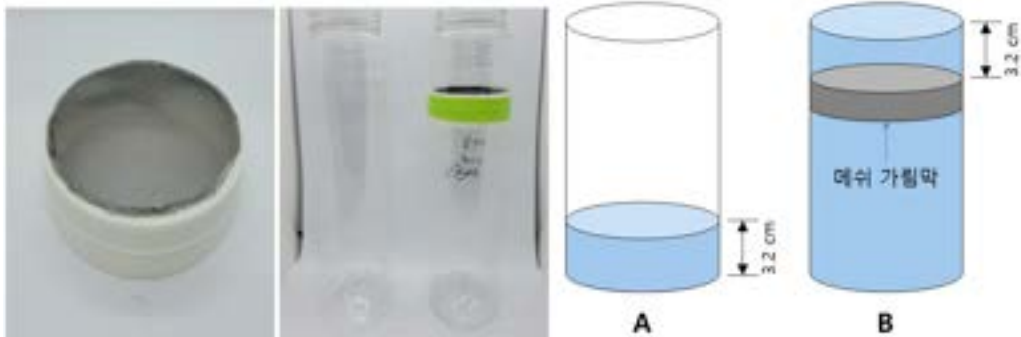


그림 15. 수면 부상성 시험방법의 예시

**4.2.4.5** 수면 부상성 평가를 위해 2개의 동일한 크기를 가진 시험용기를 준비하고, 시험생물의 상하 이동 거리가 동일하도록 제한할 수 있는 메쉬로 된 가림막을 설치한다(용기 B).

**4.2.4.6** 가림막의 설치 높이는 용기 A에 투입된 물의 양에 따른 높이와 동일하도록 하여 용기 B에 투입된 물의 양과 상관없이 시험생물의 유영 깊이가 같도록 한다.

**4.2.4.7** 표 6에서 제시된 바와 같이 두 용기의 물 양은 10배 차이가 나도록 준비하며, 동일한 양의 제품을 투입하여 살생물물질의 농도 차이 또한 10배가 되도록 한다.

**4.2.4.8** 용액 농도를 기준으로 두 시험군은 수치적으로는 10배 차이를 갖고 있으나 수면 부상성 특성을 가진 경우라면 이론적으로 물질의 분포가 수면 상단에 집중되어 수면부터 메쉬 가림막 사이의 농도가 높게 형성된다.

**4.2.4.9** 약 10~20 개체의 시험생물을 투입하여 동일한 방식으로 시험을 진행하여 최종 치사율 혹은 우화저해율을 확인한다.

**4.2.4.10** 통계처리를 통해 농도의 차이와 상관없이 두 시험군에서 동일한 효과를 확인한 경우라면 수면 부상성이 있다고 판단한다.

표 6. 수면 부상성 평가를 위한 시험설계의 예시

구분	A	B
용기의 지름(cm)	10	10
물의 양(mL)	250	2500
시험생물 이동 가능 수심(cm)	3.2	3.2
제품 처리량(μL)	0.5	0.5
수중 살생물물질의 농도 (ppm)	0.5	0.05

#### 4.2.5 수중처리 모의사용 특수시험방법(확산성)

**4.2.5.1** 살생물제품의 제형에 따라 대상 수계에 처리 시 확산성이 다르게 나타날 수 있으며, 이는 표준사용량의 기준 살포면적을 결정하는 데 영향을 줄 수 있다.

**4.2.5.2** 다른 제품에 비해 우수한 확산성을 주장하며 단위 살포로 더 넓은 공간을 처리할 수 있다고 주장하는 경우 모의사용시험 일반시험자료와 함께 해당 살생물제품이 가진 확산성 시험자료를 추가로 작성하여야 한다.

**4.2.5.3** 확산성 시험에서는 제품의 라벨에서 주장하는 효력이 나타나는 실제 면적을 대상으로 기승인받은 상용 수중처리제와의 비교시험을 실시한다.

**4.2.5.4** 부득이하게 실제 면적을 대상으로 시험을 진행하는 것이 어려운 경우, 제품의 추천사용농도의 비율을 유지하면서 시험 면적을 줄여 진행할 수 있으나 타제품 대비 우수한 확산성을 갖고 있음을 증명할 수 있어야 한다.

**4.2.5.5** 일정 면적을 가진 시험용기의 한 쪽 구석에 이동을 제한할 수 있는 거름망 등을 설치하여 시험생물을 투입한다.

**4.2.5.6** 시험용기의 반대쪽에 제품을 표준사용량에 따라 처리하고 시험생물의 치사 효과를 평가한다.

4.2.5.7 제품을 투입하는 과정 및 시험 진행과정에서 외부의 물리적 자극으로 필요 이상의 확산이 나타나지 않도록 주의한다.

4.2.5.8 확산성 평가를 용이하게 할 수 있도록 사각형 혹은 원형 이외의 형태를 가진 용기(예를 들어 L자 혹은 T자 형태 등)를 사용할 수 있다.

## 5.0 결과보고

### 5.1 계산

5.1.1 시험 시작 후 24시간 경과 시점에서 최종 치사율을 확인하며, 경우에 따라 48시간 혹은 72시간에서 시험을 종료할 수 있다.

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 곤충성장조절제는 대조군의 우화율이 80% 이상일 때 시험을 종료하며, 치사율을 우화저해율로 대체한다.

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

$$\text{우화저해율(\%)} = 100 - \left( \frac{\text{처리군의 우화율} \times 100}{\text{대조군의 우화율}} \right) \quad (\text{식 2})$$

5.1.4 대조군의 치사율이 20%를 초과하거나 우화율이 80% 미만이라면 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해 활력이 떨어지거나, 시험방법 혹은 보관방법에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

5.1.5 살생물제의 반수치사농도(LC<sub>50</sub>) 계산을 위해서는 분산된 치사율 구간에서 4개 이상의 농도를 포함하여 probit 분석을 실시해야 한다(치사율 구간 예: 5~30% 구간 내 농도 1개, 30~50% 구간 내 1개, 50~70% 구간 내 1개 및 70~95% 구간 내 1개 등).

**5.1.6** 곤충성장조절제의 반수저해농도(Median inhibition of adult emergence,  $IE_{50}$ ) 계산을 위해서는 분산된 치사율 구간에서 4개 이상의 농도를 포함하여 선형회귀 분석을 실시해야 한다(저해율 구간 예: 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** 실험실시험에 대해서는 probit 또는 선형회귀 분석에 따른 통계자료( $LC_{50}$ 과  $LC_{90}$ 값 또는 곤충성장조절제의 경우  $IE_{50}$ 과  $IE_{90}$ 값, 기울기값, 95% 신뢰한계 등)를 농도별 시험 결과 원자료와 함께 제출한다.

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

**5.2.3** 모의사용시험에 대해서는 시험 종료 시점에서의 최종 치사율 또는 우화저해율 결과를 원자료와 함께 제출한다.

## 살충제 - 가열증산시험방법

2022

## 1.0 개요

이 시험방법은 일정 크기의 공간에 살생물제품을 전기와 열 등을 사용하여 가열증산 처리했을 때 유효성분이 대상생물에 주는 영향을 평가하는 방법이다. 액체전자모기향과 같이 일정 기간의 약효 지속성을 주장하는 경우 [살생물제품의 잔류효과 시험기준]을 참조하도록 한다.

## 2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

모기향, 전자모기향 등과 같은 가열증산 및 휘산되는 살생물제품 및 이러한 제품의 유효 성분으로 사용되는 살생물물질을 대상으로 한다.

## 3.0 대상생물

모기 등의 비행곤충을 대상으로 한다.

## 4.0 시험절차

### 4.1 시험기구

#### 4.1.1 소형증산장치

4.1.1.1 살생물물질의 실험실시험 및 반제품 평가 등의 목적으로 소형휘산장치를 사용할 수 있다.

**4.1.1.2** 시험용기의 크기는 살생물물질의 휘산과 확산이 충분히 일어날 수 있는 크기이어야 하며, 일반적으로  $80 \times 80 \times 80$  cm 정도의 크기를 가진 세척이 용이한 유리 또는 투명 플라스틱 재질의 상자를 사용한다.

**4.1.1.3** 모기향과 같이 열과 그을음이 많이 발생하는 반제품 및 완제품을 평가하는 경우에는 화재의 위험이 존재하므로 플라스틱 재질의 용기는 적절하지 않다.

**4.1.1.4** 전자모기향과 같이 전기를 사용하는 반제품 및 완제품을 평가하는 경우에는 용기의 내부로 전기가 공급될 수 있는 별도의 장치가 필요하며, 전원 공급 과정에서 약제가 빠져나지 않고 밀폐될 수 있어야 한다.

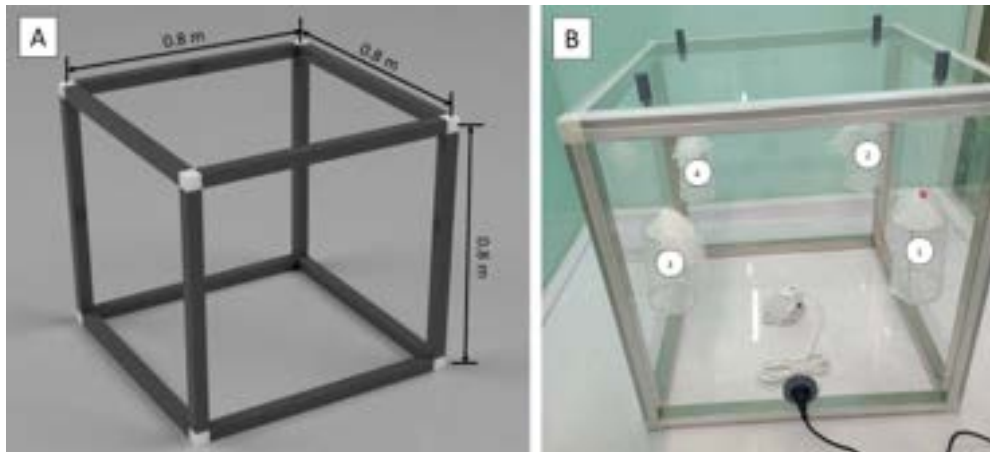


그림 16. 소형 가열증산시험장치의 예시

#### 4.1.2 피트-그래디 챔버

**4.1.2.1** 살생물제품의 모의사용시험은 피트-그래디 챔버 혹은 그 이상의 크기를 가진 공간에서 시험을 진행한다.

**4.1.2.2** 시험에 사용되는 공간은  $180 \text{ cm} \times 180 \text{ cm} \times 180 \text{ cm}$  크기 이상의 세척이 용이한 유리, 금속 또는 투명 플라스틱 재질로 이루어져 있다.

**4.1.3** 전자모기향 등 전기를 사용하는 제품을 평가하기 위해서는 해당 공간 내부에 별도의 전원 공급 장치를 설치하여 밀폐된 환경에서 전기가 공급될 수 있도록 한다.

4.1.4 시험 공간에는 내부 공기 중에 부유하는 살충성분을 제거하기 위한 별도의 환기 장치가 설치되도록 한다.

4.1.5 시험 공간의 벽면에는 결과를 확인하기 위한 관찰창이 있고, 정확한 평가를 위해 시험 중에는 내부가 밀폐될 수 있어야 한다.

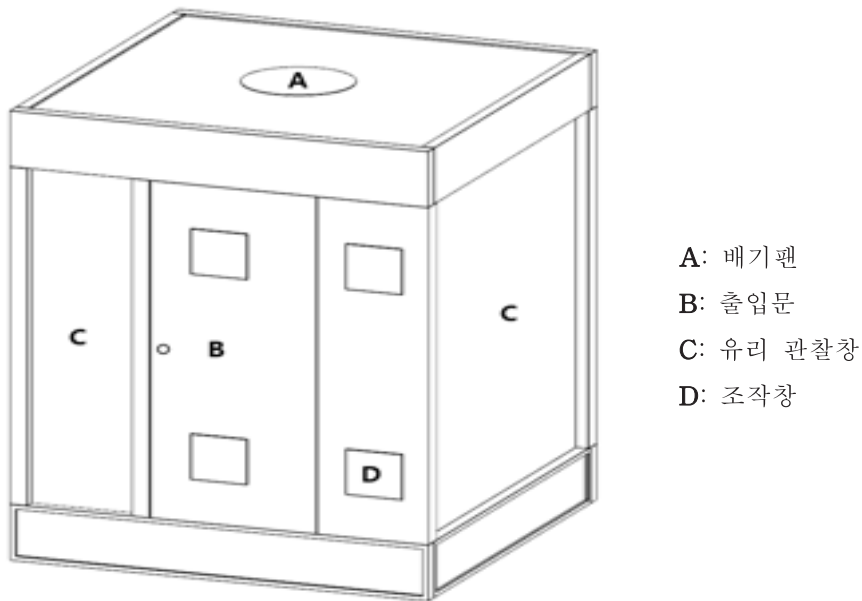


그림 17. 가열증산시험방법에 사용되는 피트-그래디 챔버 모식도

## 4.2 시험물질

### 4.2.1 살생물물질

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

### 4.2.2 살생물제품

4.2.2.1 완제품 형태의 살생물제품은 별도의 조작 없이 그대로 사용하며, 반제품 형태의 살생물제품은 시험 목적에 맞게 희석 등의 과정을 거쳐 준비한다.

**4.2.2.2** 기구 등에 장착하여 휘산시키는 제품의 경우 발열판 및 발열체의 온도, 심지의 종류, 기구의 전원공급 방식 등이 살생물제품의 휘산 속도에 직접적인 영향을 줄 수 있으므로, 실제 판매하고자 하는 완제품형태의 제품과 휘산기구를 사용하여 평가를 진행하여야 한다.

### **4.2.3 대조군**

**4.2.3.1** 살생물물질을 평가하는 경우 살생물물질의 용해 및 희석에 사용된 동일한 용매를 음성대조군으로 사용한다.

**4.2.3.2** 해당 경우 시험생물이 용매에 의한 치사 효과가 발생하지 않음을 확인하여야 한다.

**4.2.3.3** 살생물제품의 평가에 대해서는 동일한 방식으로 제조된 제품에서 살생물 물질만을 제외한 시료를 음성대조군으로 설정하는 것이 바람직하나, 부득이한 경우 무처리군을 대조군으로 설정할 수 있다.

## **4.3 시험방법**

### **4.3.1 생물검정법**

**4.3.1.1** 나일론 등과 같은 재질의 망으로 된 케이지(예: 지름 10~20 cm, 높이 20 cm, 망 구멍 크기 0.5 mm의 원기둥)에 약 20~30개체의 대상생물을 투입하여 준비한다.

**4.3.1.2** 대상생물을 투입한 망으로 된 케이지 4개를 준비하여 시험공간 각 모서리에 벽으로부터 약 10 cm 떨어지도록 배치한다.

**4.3.1.3** 케이지의 설치 높이는 시험공간의 중간에서 천정 사이로 위치하며, 피트-그래디 챔버를 사용하는 경우 천정으로부터 약 80 cm 간격으로 설치한다.

**4.3.1.4** 시험 공간 바닥 중앙에 날개 직경 30 cm의 선풍기를 천장을 향하도록 배치하고 그릴 위에 지름 30 cm의 원판을 올려둔다.

**4.3.1.5** 공기 순환을 위해 선풍기를 가동하며, 피트-그래디 챔버 이상의 공간을 대상으로 시험을 진행하는 경우 풍속은 약 4.5~5.0 m/s 수준으로 설정한다.

**4.3.1.6** 동일한 시험용기 또는 공간에서 반복시험 진행 시 시험물질이 남아있을 경우 등을 대비해 독성반응을 관찰할 필요가 있다.

**4.3.1.7** 대상생물을 투입한 후 60분 동안 관찰했을 때 독성반응이 나타난다면, 시험을 중단하고 시험용기 또는 공간을 다시 세척하거나 교체해야 한다.

**4.3.1.8** 모든 제품은 별도의 조작 없이 시험 공간 중앙에 설치한 원판 위에 올려놓고 가동한다.

**4.3.1.9** 제품 처리 후 10분 간격으로 120분 동안 개체의 녹다운을 관찰한다.

**4.3.1.10** 녹다운 속도가 빨라 10분 간격으로 녹다운을 관찰하는 경우에  $KT_{50}$  값이 판정되지 않는 경우 관찰간격을 줄이도록 한다.

**4.3.1.11** 녹다운 관찰 종료 후 시험자의 안전을 위해 즉시 환기를 실시하고, 대상생물을 깨끗한 용기에 옮겨 먹이와 수분 공급 하에 최종 치사율을 확인한다.

**4.3.1.12** 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

**4.3.1.13** 외부에서 전원을 조절하여 기기의 가동을 시행하는 경우 시험자가 살생물 물질에 노출되지 않으며, 공기순환을 실시하지 않는 경우 순환기구의 날개에 시험생물이 물리적 피해를 입을 우려가 없으므로, 외부에서 기기 전원 조작이 가능하면서 순환을 하지 않는 경우에 한해서 별도의 망으로 된 케이스를 사용하지 않고 챔버 내부로 약 50~100개체의 시험생물을 직접 투입하여 시험을 실시할 수 있다.

## **4.3.2 소형 가열증산장치의 실험실시험**

**4.3.2.1** 일반적으로 가열증산제 및 자연휘산제 형태의 제형은 살생물물질이 가진 고유의 효과 뿐만아니라 심지, 발열체, 휘산패드, 휘산온도 등 부형제 및 휘산기구의 물리적 성질이 살생물제품의 최종적인 효과·효능에 직접적인 영향을 줄 수 있다.

**4.3.2.2** 이에 따라 가열증산제 및 자연회산제에 사용되는 살생물물질의 살생물기능은 미량국소처리시험방법, 접촉시험방법 등을 통해서도 평가할 수 있다.

**4.3.2.3** 피트-그래디 챔버 혹은 실사용 조건을 모사한 공간에서의 시험은 상당한 인력과 시간이 소요되는 과정이므로, 실사용 조건의 효과를 예측하기 위해 소형증산장치에서의 시험을 실시할 수 있다.

**4.3.2.4** 다만 소형증산장치의 시험결과는 실험실시험자료로만 활용할 수 있으며, 모의 사용시험을 위해서는 확장된 공간에서 추가적인 시험을 반드시 실시하여야 한다.

**4.3.2.5** 소형증산장치에서의 시험은 공기 순환의 필요성 등을 평가하는 목적으로 사용되며, 시험의 목적에 따라 자유롭게 시험방법의 설정이 가능하다.

**4.3.2.6** 시험생물의 투입과 시험의 진행은 상술한 생물검정법을 참고하여 시행한다.

**4.3.2.7** 참고로, 완제품을 기준으로 소형증산장치의 실험실시험에서 5분 이내의  $KT_{90}$ 값, 2분 이내의  $KT_{50}$ 값이 확보되지 않는 경우 실사용 조건에서의 충분한 효과는 기대하기 어렵다.

### **4.3.3 가열증산 모의사용시험**

**4.3.3.1** 모기향, 전자모기향 등 가열증산제품의 모의사용시험은 제품의 라벨에 기재된 공간을 기준으로 시험을 실시하여야 한다.

**4.3.3.2** 부득이하게 실제 공간에서의 시험이 어려운 경우 공간을 줄여 시험을 실시할 수 있으나, 이 때 시험공간의 크기는 피트-그래디 챔버보다 작을 수는 없다.

**4.3.3.3** 다만 실제 제품에서 주장하는 효능을 나타내는 공간보다 작은 공간에서 시험을 수행한 경우, 실제 공간에서의 효과를 추정할 수 있는 과학적 근거를 함께 제시하여야 한다.

**4.3.3.4** 시험 사이에 충분한 간격과 세척을 시행하여 이전 시험의 영향이 없도록 주의하여야 한다.

**4.3.3.5** 시험공간 내부에 시험의 목적에 따라 필요한 개수의 시험생물이 포함된 망으로 된 케이지를 설치하되, 최소 4개 이상을 설치한다.

**4.3.3.6** 증산시험에 있어 공간 내에서의 노출시간은 시험생물의 녹다운 여부와 상관없이 치사율을 결정짓는 데 주요한 요소로 작용한다.

표 7. 피트-그래디 챔버에서의 노출시간별 치사율 결과 예시

노출시간(시간)	녹다운(분, 95% confidence limit)		24시간 치사율 (% ± SE)
	KT <sub>50</sub>	KT <sub>90</sub>	
1	7.2(6.8-7.6)	12.4(11.7-13.3)	68.3 ± 6.4
2	6.8(6.4-7.1)	11.6(10.9-12.3)	98.5 ± 0.8

**4.3.3.7** 예를 들어, 표 7에서 제시된 바와 같이 동일한 살생물제품을 이용하여 시험생물에 대한 노출시간이 증가하는 경우 녹다운 시간에는 영향이 없지만 치사율이 증가하는 것을 확인할 수 있다.

**4.3.3.8** 가열증산 모의사용시험에서는 90% 이상의 치사율이 확보되는 노출시간까지 시험을 진행하도록 하며, 설정된 노출시간이 종료된 즉시 환기하고 시험생물을 깨끗한 용기로 옮겨 먹이와 수분을 공급하여 시험시작 24시간 이후의 최종 치사율을 확인한다.

**4.3.3.9** 시험생물의 투입과 시험의 진행은 상술한 생물검정법을 참고하여 시행한다.

## 5.0 결과보고

### 5.1 계산

**5.1.1** 살생물물질 및 살생물제품의 치사 효과는 처리 후 24시간 경과시점을 기준으로 판정한다.

**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(예: 용매의 휘발시간이 충분하지 않은 경우 등) 혹은 보관 방법(예: 적절하지 않은 보관 온도 및 습도 등)에 문제가 있음을 의미한다. 따라서 해당 결과는 사용하지 않고 재시험을 진행한다.

**5.1.4** 살생물제품에 실제 적용하고자 하는 최종 농도에서 시험을 진행하며, 시간에 따른 녹다운 개체수로 probit 분석을 실시하여 반수녹다운시간(KT<sub>50</sub>) 및 KT<sub>90</sub>값을 판정한다.

## 5.2 결과의 표시

**5.2.1** 모든 시험에 대해서 probit 분석에 따른 통계자료(KT<sub>50</sub>과 KT<sub>90</sub>값, 기울기값, 95% 신뢰한계 등)와 최종 치사율 결과를 원자료와 함께 제출한다.

**5.2.2** 증상 모의사용시험의 경우 제품의 라벨에서 주장하는 실제 사용 환경에서 진행되지 않고 피트-그래디 챔버를 이용해 시험을 진행 했다면 실사용 조건에서의 효과 추정치를 계산식과 함께 제출한다.

## 살충제 - 독먹이시험방법

2022

### 1.0 개요

이 시험방법은 대상생물이 살생물물질 및 살생물제품을 섭식하여 치사 효과를 나타내는 방식을 평가하는 시험이다. 생물의 종류 및 물질에 따라 독성물질을 탐지, 회피하는 기피현상을 보이는 경우가 존재하기 때문에, 독먹이 제품을 평가할 때는 독먹이의 선호성(palatability)을 함께 고려하여야 한다. 추가로 제품에서 일정 기간의 약효 지속성을 주장하는 경우 [살생물제품의 잔류효과 시험기준]을 참조하도록 하며, 흰개미를 대상으로 하는 독먹이시험방법은 [흰개미의 독먹이시험방법]을 참조한다.

### 2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

대상생물이 발생한 장소 또는 발생이 예상되는 장소에 설치하는 독먹이 제형의 살생물 제품 및 이러한 제품의 유효성분으로 사용되는 살생물물질을 대상으로 한다.

### 3.0 대상생물

이 시험방법은 바퀴벌레, 개미 등을 대상으로 한다.

### 4.0 시험절차

#### 4.1 시험기구

##### 4.1.1 실험실시험

4.1.1.1 독먹이 실험실시험 용기의 크기는 시험생물의 행동에 제약을 주지 않을 정도로 충분한 공간이 있어야 한다.

4.1.1.2 이동속도가 빠른 바퀴 등의 경우 약 70 cm × 70 cm × 70 cm의 투명한 상자용기를 사용할 수 있으며, 시험의 목적에 따라 더 작은 형태의 용기도 사용이 가능하다.

4.1.1.3 개미와 같은 포복곤충의 경우 약 30 × 30 × 6 (W×D×H) cm의 사각용기를 사용할 수 있다.

#### 4.1.2 선택시험용기

4.1.2.1 바퀴, 개미, 빈대 등의 포복곤충은 주로 은신처에 기거하다 먹이탐색, 호흡활동 등을 위해 좁은 틈을 통해 기어나오는 습성이 있으므로 OECD의 시험방법에서 제시된 에벨링 박스를 이용해 시험을 진행한다.

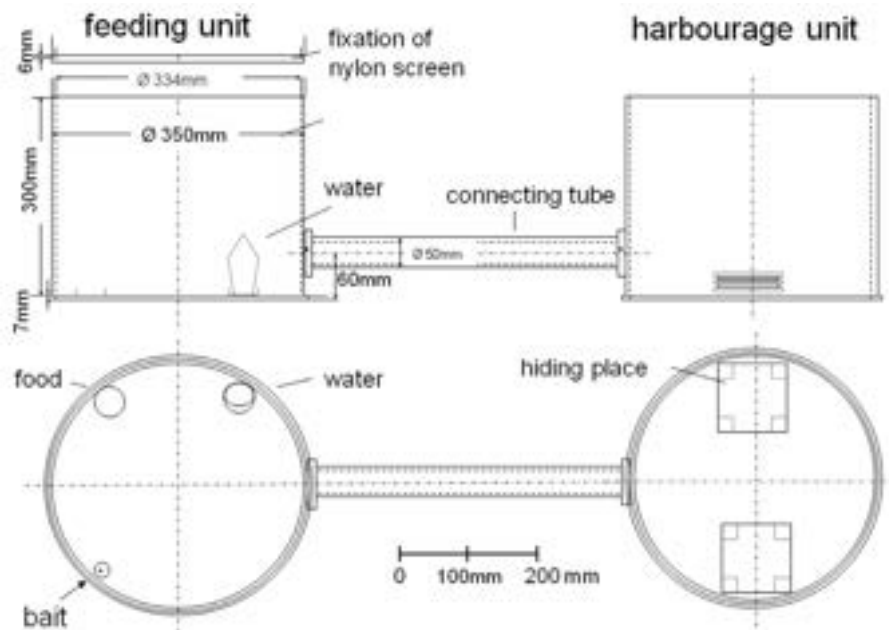


그림 18. 에벨링 박스의 예시 도면(ENV/JM/MONO(2013)3)

4.1.2.2 시험용기는 동일한 크기와 모양을 가진 2개의 직육면체 혹은 원기둥 형태의 용기를 연결부로 연결한 형태이다.

4.1.2.3 각 용기는 시험생물의 행동에 제약을 주지 않도록 충분한 크기여야 하며, 바퀴의 경우 약 35 cm × 35 cm × 35 cm 정도의 크기가 적당하다.

4.1.2.4 연결부 내부 크기는 시험생물의 이동에 지장이 없을 정도로 하며, 바닥에서 약 3~4 cm의 높이를 두고 연결한다.



그림 19. 선택시험용기의 예시

4.1.2.5 개미 등의 소형 포복곤충을 대상으로 하는 선택시험용기의 크기는 이보다 작을 수 있으며, 개미의 경우 시험용기는 약 20 cm × 20 cm × 7 cm 정도의 크기로 제작한다.

## 4.2 시험물질

### 4.2.1 살생물물질

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

#### **4.2.2 살생물제품**

**4.2.2.1** 완제품 형태의 살생물제품은 별도의 조작 없이 그대로 사용하며, 반제품 형태의 살생물제품은 시험 목적에 맞게 희석, 소분 등의 과정을 거쳐 준비한다.

**4.2.2.2** 용기에 담아 사용하는 제품의 경우 용기의 형태, 입구의 크기 등이 시험생물이 용기 내로 진입하는 데 영향을 줄 수 있으므로, 완제품의 평가에 있어서는 실제 살생물 제품을 판매할 때 사용하고자 하는 용기를 그대로 사용하여야 한다.

#### **4.2.3 대조군**

**4.2.3.1** 살생물물질을 평가하는 경우 살생물물질의 용해 및 희석에 사용된 동일한 용매를 음성대조군으로 사용한다.

**4.2.3.2** 해당 경우 시험생물이 용매에 의한 치사 효과가 발생하지 않음을 확인하여야 한다.

**4.2.3.3** 살생물제품의 평가에 있어서는 동일한 방식으로 제조된 제품에서 살생물 물질만을 제외한 시료를 음성대조군으로 설정하는 것이 바람직하나, 부득이한 경우 시험생물을 사육하는 데 사용하는 사료를 대조군으로 설정할 수 있다.

### **4.3 시험방법**

#### **4.3.1 생물검정법**

**4.3.1.1** 시험용기 상단에 플루온(polytetrafluoroethylene) 또는 바셀린과 하이드로카본 오일을 섞은 탈출방지제를 도포하여 시험생물의 탈출을 방지한다.

**4.3.1.2** 시험용기 내에 시험생물을 투입하고, 일정시간의 순응과정을 거쳐 투입한 개체들이 정상 활동을 회복하는 것을 확인한다.

**4.3.1.3** 순응 시 시험생물의 자연환경에서의 생활방식을 모사하여 은신처를 제공하도록 하며, 충분한 먹이와 수분을 공급해준다.

**4.3.1.4** 순응 완료 후 기존에 제공한 먹이와 물을 수거하며, 시험방법 및 시험 목적에 따라서 시료를 시험용기 내에 투입한다.

**4.3.1.5** 시험생물 및 유효성분의 작용기작에 따라 적절한 관찰 간격을 정하고 시간에 따른 치사율을 확인한다.

**4.3.1.6** 바퀴의 경우 14일, 개미의 경우 4개월까지 효과를 관찰하나 유효성분의 작용기작 등에 따라 변경할 수 있으며, 시험에 따라 90% 이상의 치사율이 지정된 시험기간 이전에 확보되는 경우 시험을 종료할 수 있다.

**4.3.1.7** 동일한 시험용기 또는 공간에서 반복시험 진행 시 시험물질이 남아있을 경우 등을 대비해 독성반응을 관찰할 필요가 있다.

**4.3.1.8** 대상생물을 투입한 후 일정 시간 동안 관찰했을 때 독성반응이 나타난다면, 시험을 중단하고 시험용기 또는 공간을 다시 세척하거나 교체해야 한다.

**4.3.1.9** 서로 다른 사육상에서 사육한 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

#### **4.3.2 살생물물질에 대한 강제 섭취 실험실시험**

**4.3.2.1** 독먹이제품의 경우 지속적인 섭취를 하기에 농도에 따른 차이를 관찰하기 쉽지 않아 반수치사량 평가를 생략할 수 있으며, 제품에 사용되는 살생물물질 자체의 반수치사 효과는 미량국소처리시험방법, 접촉시험방법 등을 통해 확보할 수 있다.

**4.3.2.2** 비선택적 방법의 실험실시험을 통해 독먹이용 살생물물질 자체 및 살생물제품이 가진 독먹이의 선호성(palatability), 살생물물질 및 제품이 가진 기피 효과 등을 평가할 수 있다.

**4.3.2.3** 또한, 비선택적 방법은 충분한 구제효과를 확보하기 위해 필요한 살생물제품 내의 살생물물질의 농도설정의 목적으로 사용 가능하다.

4.3.2.4 시험구당 바퀴의 경우 큰 바퀴는 10개체, 작은 바퀴는 20개체 이상을 투입하며, 시험의 목적에 따라 암수의 비율을 조절한다.

4.3.2.5 실험실시험에서는 결과의 균질성을 위해 수컷만을 선별하여 시험을 시행할 수 있다.

4.3.2.6 바퀴는 용기에 투입 후 24시간 이상의 순화과정을 거치도록 한다.

4.3.2.7 개미의 경우 가급적 여왕개미를 포함한 최소 100개체로 이루어진 군체를 손상 없이 시험공간으로 옮겨주며, 약 1주일의 순화과정을 거치도록 한다.



그림 20. 소형용기에서의 강제 섭취 실험실시험의 예시

4.3.2.8 평가하고자 하는 살생물물질을 사료에 혼합하여 준비하거나 살생물물질이 포함된 적량의 반제품을 용기에 투입하여 시험을 실시한다.

4.3.2.9 선호성 평가를 위해 대조군 및 실험군에 투입된 사료 혹은 반제품의 무게 변화를 매일 기록하도록 한다.

4.3.2.10 시험생물을 투입하지 않은 동일한 조건의 용기를 준비해 무게 변화를 측정하는 방법으로 환경조건에 의한 시료 내 수분함량 변화에 따른 무게 차이를 보정할 수 있다.

4.3.2.11 독먹이가 포함된 사료 및 반제품의 경우 독성 반응에 따라 섭취량이 감소하여

선호성이 뚜렷하게 나타나지 않을 수 있으며, 이 경우 선호성 시험을 목적으로 살생물 물질이 포함되어 있지 않은 살생물제품의 반제품을 이용해 별도의 시험을 시행한다.

**4.3.2.12** 시험생물을 사육하는 사료와 살생물물질이 포함되지 않은 동량의 반제품을 동시에 급여하거나 별도의 시험군에 투입하여 섭취량을 비교하도록 한다.

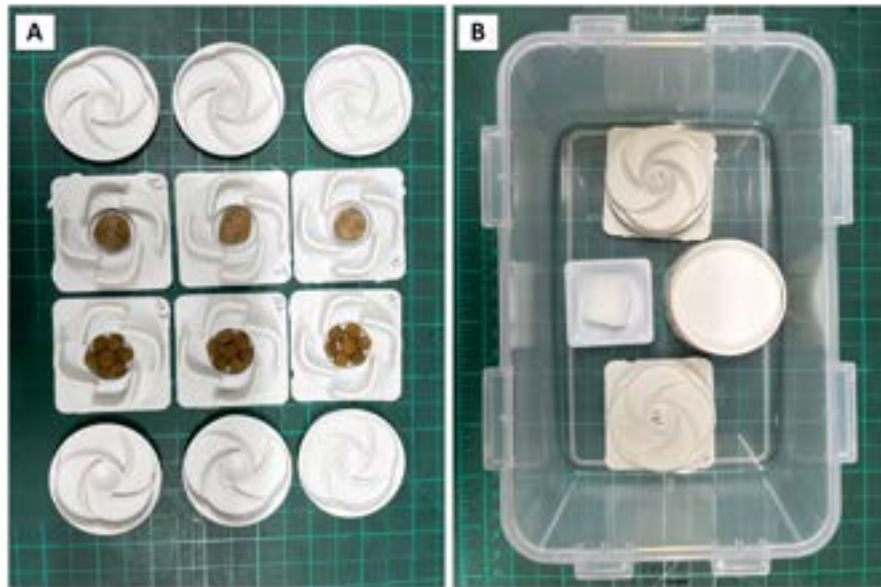


그림 21. 소형용기에서의 선호성 시험의 예시

**4.3.2.13** 시험에 사용된 반제품의 섭취량이 시험생물을 사육하는 데 사용하는 사료의 섭취량과 통계적으로 동등 이상의 반응을 확인하는 경우 살생물제품으로서의 충분한 선호성을 가진 것으로 판정한다.

### 4.3.3 독먹이 모의사용시험

**4.3.3.1** 두 개의 상자로 이루어진 용기를 준비하고 서식용기(nest)에는 은신처를 제공하며, 평가용기에는 충분한 양의 물과 먹이를 제공한다.

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

**4.3.3.3** 바퀴의 경우 미국바퀴, 집바퀴 등 중형 이상의 바퀴는 15개체, 독일바퀴는 30개체 이상을 투입하여 24시간 이상 순화한다.

**4.3.3.4** 암수비율은 동일하게 유지할 수 있으나, 시험목적에 따라 조절할 수 있다.

**4.3.3.5** 제품의 라벨에서 알주머니(ootheca)에 대한 효과를 주장한다면 알주머니를 보유한 암컷 개체만을 평가에 사용하도록 한다.

**4.3.3.6** 개미의 경우 일개미 뿐 아니라 여왕개미를 포함한 최소 100개체로 이루어진 군체를 손상 없이 시험공간으로 옮겨야 하며, 1주일 이상 환경에 순응시킨다.

**4.3.3.7** 순응이 끝나면 기존에 제공한 물과 사료를 수거하고 평가용기에 시험군으로 사용될 평가제품 및 대조군으로 사용될 먹이를 새로운 물과 함께 배치한다.

**4.3.3.8** 물은 평가용기의 중앙에, 대조군과 시험군은 연결통로에서 먼 쪽의 각 모서리에 배치한다.

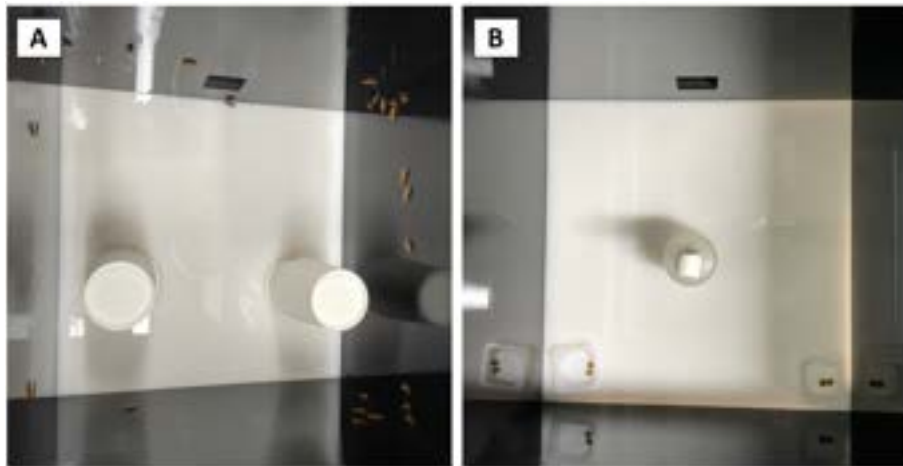


그림 22. 독먹이 모의사용시험 용기의 배치, 좌: 서식용기, 우: 평가용기

**4.3.3.9** 시험생물 및 유효성분의 작용기작에 따라 적절한 관찰 간격을 정하고 시간에 따른 치사율을 확인한다.

**4.3.3.10** 시험은 바퀴의 경우 14일, 개미의 경우 4개월까지 효과를 관찰하나 유효성분의

작용기작 등에 따라 변경할 수 있으며, 시험에 따라 90% 이상의 치사율이 지정된 시험 기간 이전에 확보되는 경우 시험을 종료할 수 있다.

**4.3.3.11** 선호성 평가를 위해 치사율 정보와 함께 시험군과 대조군의 섭식량 차이를 함께 조사하여 기록한다.

**4.3.3.12** 바퀴벌레의 알에 대한 영향을 제품의 라벨에서 주장하는 경우, 암컷으로부터 떨어진 알주머니 및 알주머니가 달린 채 사멸한 암컷을 수거하여 각각을 별도의 깨끗한 용기로 옮겨 담아 최대 2주간 반응을 관찰한다.

**4.3.3.13** 또는, 떨어진 알주머니 및 사멸한 암컷에 달린 알주머니로부터 부화한 개체가 동일한 용기에 지속해서 머물렀을 때의 반응을 관찰할 수도 있다.

## 5.0 결과보고

### 5.1 계산

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

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

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

**5.1.3** 시간에 따른 치사 개체 측정 결과의 probit 분석을 통해 시험생물에 대한 반수치사 시간(LT<sub>50</sub>) 및 LT<sub>90</sub> 값을 판정한다.

## 5.2 결과의 표시

5.2.1 실험실시험에 대해서는 선호성 결과를 원자료와 함께 제출한다.

5.2.2 모의사용시험에 대해서는 probit 분석에 따른 통계자료( $LT_{50}$ 과  $LT_{90}$ 값, 기울기값, 95% 신뢰한계 등)를 시험 종료 시기까지 지정된 간격으로 관찰한 원자료와 함께 제출한다.

5.2.3 개미의 경우 여왕개미의 치사율을 별도로 관찰하여 함께 제출한다.

## 살충제 - 흰개미의 독먹이시험방법

2022

## 1.0 개요

이 시험방법은 대상생물이 살생물물질 및 살생물제품을 섭식하여 치사 효과를 나타내는 방식을 평가하는 시험이다. 생물의 종류 및 물질에 따라 독성물질을 탐지, 회피하는 기피현상을 보이는 경우가 존재하기 때문에, 독먹이 제품을 평가할 때는 독먹이의 선호성(palatability)을 함께 고려하여야 한다. 추가로 제품에서 일정 기간의 약효 지속성을 주장하는 경우 [살생물제품의 잔류효과 시험기준]을 참조하도록 한다.

## 2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

독먹이 제형의 살생물제품과 목재 등 흰개미가 가해하는 소재에 분무, 분사, 도포 등의 방법으로 처리하는 살생물제품 및 이러한 제품의 유효성분으로 사용되는 살생물물질을 대상으로 한다.

## 3.0 대상생물

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

## 4.0 시험절차

### 4.1 시험기구

**4.1.1** 시험공간은 불투명 용기(30 cm × 20 cm × 10 cm 이상, W×D×H)에 미리 준비한 모래를 5 cm 두께로 채워 사용한다.

**4.1.2** 시험에 사용하는 모래는 사용 전 30 mesh 체를 이용해 거르고  $60 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 에서 48시간 동안 건조한 뒤, 증류수와 모래의 중량비를 1:2로 혼합하여 사용한다.

**4.1.3** 시험공간의 습도유지를 위하여 항온항습기에 보관하거나, 매일 결과 조사 후 일정량의 증류수를 분무한다.

## **4.2 시험물질**

### **4.2.1 살생물물질**

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

### **4.2.2 살생물제품**

**4.2.2.1** 완제품 형태의 살생물제품은 별도의 조작 없이 그대로 사용하거나 시험 목적에 맞게 증류수에 희석하여 사용한다.

### **4.2.3 대조군**

**4.2.3.1** 살생물물질을 평가하는 경우 살생물물질의 용해 및 희석에 사용된 동일한 용매를 음성대조군으로 사용한다.

**4.2.3.2** 해당 경우 시험생물이 용매에 의한 치사 효과가 발생하지 않음을 확인하여야 한다.

**4.2.3.3** 반제품 혹은 완제품 형태의 살생물제품에 대한 시험의 경우 제품에 포함된 용매 및 유화제 등이 제품의 효과에 영향을 줄 수 있다.

**4.2.3.4** 살생물제품의 평가에 대해서는 동일한 방식으로 제조된 제품에서 살생물 물질만을 제외한 시료를 음성대조군으로 설정하는 것이 바람직하나, 부득이한 경우 증류수만을 처리하거나 무처리군을 대조군으로 설정할 수 있다.

## 4.3 시험방법

### 4.3.1 독먹이 실험실시험

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

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

4.3.1.3 질석이나 고운 모래는 사용 전 30 mesh 채를 이용해 거르고  $60 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 48시간 동안 건조한다.

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

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

4.3.1.6 음성대조군은 증류수만을 처리하여 평가하며, 증류수를 사용하지 않는 살생물 제품에 대해서는 무처리군을 대조군으로 사용한다.

4.3.1.7 하루 간격으로 죽은 일개미의 개체수를 확인하고, 기준량에서 100% 치사율이 발생하거나 죽은 개체수가 3일간 변하지 않을 경우 시험을 중단한다.

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

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

### 4.3.2 독먹이 모의사용시험

**4.3.2.1** 시험공간(55 × 38 × 20 cm 이상, W×D×H) 내에 흰개미 일개미 200개체와 병정개미 20개체 이상을 배치하고 살생물제품을 처리한 목재 또는 설압자(150 × 18 × 1.6 mm, W×D×H)를 시험공간에 배치한다.

**4.3.2.2** 액상 제형의 경우 목재를 10초간 침지한 후 24시간 동안 실온에서 건조시켜 중량을 측정하여 사용하고, 처리 표면에 도포하는 방식으로 처리하는 제형이나 제품 (예: 도료)의 경우 목재 표면에 일정량 도포한 뒤 도포한 양을 기록하고 24시간 동안 실온에서 건조시켜 중량을 측정하여 사용한다.

**4.3.2.3** 병정개미는 투입하지만 결과에 포함시키지 않는다.

**4.3.2.4** 음성대조군은 무처리군으로 한다.

**4.3.2.5** 하루 간격으로 죽은 일개미의 개체수를 확인하고, 100% 치사율이 발생하거나 죽은 개체수가 3일 간 변하지 않을 경우 시험을 중단한다.

**4.3.2.6** 시험에 사용한 목재는 회수하여 24시간 실온에서 건조시키고 중량을 측정하여 섭취량을 확인한다.

**4.3.2.7** 시험은 다른 사육상의 개체군을 이용하여 최소 3반복 이상으로 진행한다.

**4.3.2.8** 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.



그림 23. 흰개미의 독먹이 모의사용시험의 예시

## 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 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 15% 이상 발생하면 그 해당 시험결과는 모두 버리고 반드시 재시험을 실시한다.

5.1.4 필요시 치사율과 더불어 섭식저해율 판정은 아래의 식 2를 이용하여 계산한다.

$$\text{섭식저해율(\%)} = \frac{(\text{대조군의 무게 변화량} - \text{처리군의 무게 변화량})}{\text{대조군의 무게 변화량}} \times 100 \quad (\text{식 2})$$

대조군의 무게 변화량(mg) = 용매 처리 후 최초 건조 무게-시험 종료 후 최종 건조 무게

처리군의 무게 변화량(mg) = 제품 처리 후 최초 건조 무게-시험 종료 후 최종 건조 무게

## 5.2 결과의 표시

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

5.2.2 필요시 섭식저해율의 결과에 대한 원자료를 첨부한다.

## 살충제 - 흰개미의 토양처리시험방법

2022

### 1.0 개요

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

### 2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

흰개미를 대상으로 하여 토양에 처리하는 비기피성 살생물제품을 대상으로 한다.

### 3.0 대상생물

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

### 4.0 시험절차

#### 4.1 시험기구

4.1.1 시험에 사용되는 장치는 투명한 원통 2개(직경 5 cm, 높이 8 cm)를 투명한 관(직경 1.5 cm, 길이 10 cm)으로 바닥에서 1 cm 이격하여 연결한 것을 사용한다.

4.1.2 시험에 사용할 원통과 관은 유리, 아크릴, 플라스틱 등의 재질이 권장된다.

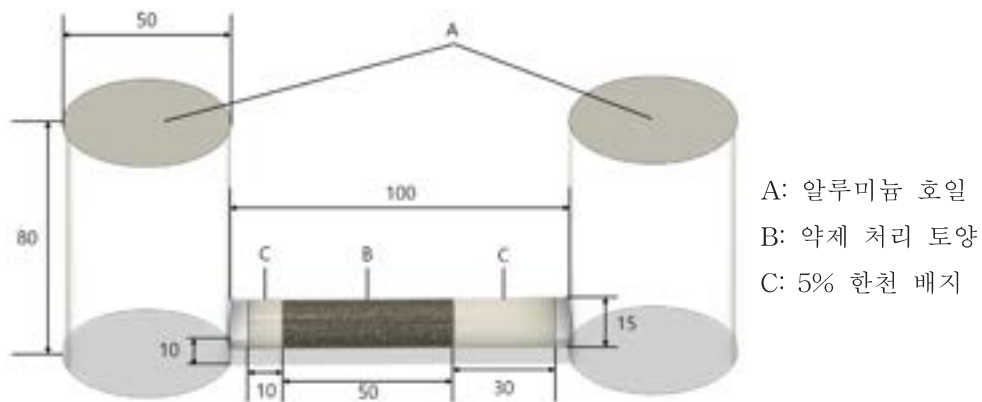


그림 24. 흰개미의 토양처리시험방법에 사용되는 기구 예시

## 4.2 시험물질

**4.2.1** 시험에 사용하는 토양 또는 모래는 30 mesh 채로 거른 뒤  $60 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 48시간 건조하는 전처리 과정을 거친 것을 사용한다.

**4.2.2** 증류수로 희석한 4-8개 농도의 시험물질을 전처리 과정을 거친 토양 또는 모래에  $25 \text{ L/m}^3$ 로 혼합하고 실온에서 1주 이상 보관한다.

**4.2.3** 보관한 토양 또는 모래를  $54 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 2주간 보관하여 풍화된 토양 또는 모래로 사용하거나 실온에서 2주간 보관하여 사용한다.

## 4.3 시험방법

**4.3.1** 사용할 모래 또는 토양을 30 mesh 채로 거르고  $60 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 48시간 건조한다.

**4.3.2** 장치의 좌우 원통 바닥에 모래 또는 토양을 증류수와 중량비 2:1로 혼합하여 1 cm 두께로 채운다.

**4.3.3** 좌우 원통을 연결하는 관에 시험물질을 처리한 토양이나 모래를 채우고, 양 끝 (그림 24. C) 위치에 1~1.5% 한천 배지를 각각 투입한다.

**4.3.4** 오른쪽 원통의 바닥에 흰개미 일개미 200개체, 병정개미 20개체를 투입하고 반대

쪽에는 잣나무 등 유인이 가능한 목재를 투입한 뒤, 알루미늄 호일로 상단을 막고 작은 구멍(직경 2 mm) 5개를 뚫어 공기 유출입이 가능토록 한다.

4.3.5 유인용 목재는 고온에서 멸균하여 사용한다.

4.3.6 병정개미는 투입하지만 결과에 포함하지 않는다.

4.3.7 사육 환경과 동일한 온습도 조건 및 압조건 하에서 7일간 매일 관찰한다.

4.3.8 음성대조군은 무처리군으로 한다.

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

4.3.10 동일한 시험용기 또는 공간에서 반복시험 진행 시 시험물질이 남아있을 경우 등을 대비해 독성반응을 관찰할 필요가 있다.

4.3.11 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 7일 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 15% 이상 발생하면 그 해당 시험결과는 모두 버리고 반드시 재시험을 실시한다.

## **5.2 결과의 표시**

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





## 살서제 - 설치류의 독먹이 시험방법

2022

## 1.0 개요

본 시험방법은 설치류에 대한 치사 효과를 지닌 성분을 함유한 살생물물질 및 살생물 제품의 효과를 평가하는 방법으로, 살생물제품의 라벨에 살서 또는 구서효과를 명시한 경우 본 시험방법으로 평가하도록 한다. 본 시험법은 급성 또는 (아)만성 항응고 살서제 평가에도 변형하여 활용가능하다. 추가로 제품에서 일정 기간의 약효 지속성을 주장하는 경우 [살생물제품의 잔류효과 시험기준]을 참조하도록 한다.

## 2.0 시험가능 살생물물질/제품 유형

분제, 액제, 고형제 등과 같은 살생물제품의 반제품 혹은 완제품을 살서나 구서를 목적으로 하는 특정 실내외 공간에 설치하는 형태의 살생물제품 및 이러한 제품의 유효성분으로 사용되는 살생물물질을 대상으로 한다.

## 3.0 대상생물

3.1.1 시궁쥐(*Rattus norvegicus*), 집쥐(*Mus musculus*) 등 설치류를 대상으로 한다.

## 4.0 시험 절차

### 4.1 사육환경조건

4.1.1 사육환경조건은 온도  $22\pm 3^{\circ}\text{C}$ , 습도  $50\pm 20\%$ , 명암주기 12시간, 조도 150~300LUX로 한다.

**4.1.2** 먹이는 실험동물 사육용 고형사료(단백질 18% 이상, 지방 4% 이상, 탄수화물 44% 이상)를 사용하고, 음수는 카본필터, 미세여과장치 및 자외선 살균으로 소독한 상수도를 급수기에 넣어 공급한다.

## 4.2 시험용기

**4.2.1** 비선택적 실험실시험의 시험공간은 시궁쥐의 경우 425 mm × 266 mm × 185 mm 규격의 케이지를, 집쥐의 경우 369 mm × 215 mm × 185 mm 규격의 케이지를 사용한다.

**4.2.2** 선택시험의 시험공간은 시험생물(집쥐 또는 시궁쥐)들의 집합장소(60 cm × 60 cm × 40 cm)를 중앙에 두고 양 옆쪽에 무처리 및 처리용 시험 케이지들(30 cm × 30 cm × 20 cm)을 사면체(10 cm × 10 cm × 15 cm)또는 원형 튜브(직경 10 cm × 길이 15 cm)로 연결하여 먹이를 자유롭게 선택하여 섭취할 수 있도록 한다(그림 25).

**4.2.3** 시험케이지는 polysulfone, 아크릴 또는 플라스틱 등 투명한 재질을 사용하여 외부에서의 관찰이 용이하도록 한다.

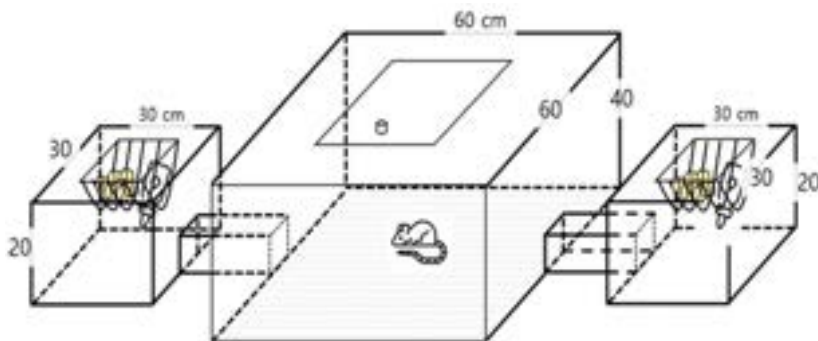


그림 25. 살서제의 선택시험용기의 예시

## 4.3 시험물질

### 4.3.1 살생물질

**4.3.1.1** 살생물질은 증류수에 희석하여 4-8개 농도로 준비한 시료를 실험동물용 고형사료에 혼합하여 사용한다.

**4.3.1.2** 이때 먹이의 성상이 유지되어야 하고 6시간 오븐( $50\pm1^{\circ}\text{C}$ )에 넣어 건조 후 무게를 측정한다.

#### **4.3.2 살생물제품**

**4.3.2.1** 살생물제품은 별도의 조작 없이 그대로 사용하거나, 먹이와 혼합하여 사용한다.

**4.3.2.2** 먹이와 혼합하여 사용할 경우 제품 라벨에 기재된 비율을 따른다.

**4.3.2.3** 이때 먹이의 성상이 유지되어야 하고 6시간 오븐( $50\pm1^{\circ}\text{C}$ )에 넣어 건조 후 무게를 측정한다.

#### **4.3.3 대조군**

**4.3.3.1** 동량의 희석용매(예: 증류수 권장)를 첨가한 먹이를 무처리용으로 사용한다.

### **4.4 시험방법**

**4.4.1** 시험 대상 동물은 야생형(야외 채집 또는 야생형 시궁쥐 콜로니) 또는 실험동물을 사용한다.

**4.4.2** 실험동물을 사용할 경우 시궁쥐의 경우 Sprague-Dawley strain 또는 Wistar strain, 집쥐의 경우 ICR strain 또는 Swiss-Webster strain 사용을 권장한다.

**4.4.3** 개체들은 건강하고 활동적이며 성적으로 성숙하여야 하고, 시험 개시 전 3일 이내에 체중이 시궁쥐의 경우 150~300 g, 집쥐의 경우 15~35 g의 범주에 속한 동물이어야 한다.

**4.4.4** 동물 입수 후 1주일 간 순화기간을 두고, 순화기간 종료 후 군 분리를 한다.

**4.4.5** 각 노출 농도별 시험군 마다 10마리(암컷 5마리, 수컷 5마리)를 사용하며, 한 케이지 당 1마리씩 대상생물을 배치하고 시험을 개시한다. 시험 개시 전 3일 이내(T-3d)에 각각의 동물의 체중을 측정하여 기록한다.

**4.4.6** 사육 또는 관리용 일반 먹이와 살생물물질(제품) 동량을 각각 다른 먹이통으로 제공한다.

**4.4.7** 일반 먹이 및 살생물물질(제품)이 처리된 먹이의 양은 시궁쥐의 경우 40 g 이상, 집쥐의 경우 20 g 이상으로 한다.

**4.4.8** 매일 먹이 소모량 및 치사율 조사 후 먹이 및 살생물물질(제품)이 든 먹이통의 위치를 서로 바꿔준다.

**4.4.9** 살생물물질(제품)의 노출기간은 급성효과 물질은 2일, (아)만성효과 물질은 15일로 한다. 시험(독먹이 노출) 기간은 15일 동안 유지한다. 독먹이에 노출된 모든 동물들이 2일 전에 사망했어도 시험기간은 무처리구를 대상으로 15일 동안 유지한다.

**4.4.10** 노출기간동안 매일 살서효과를 관찰하며, 먹이 및 살생물물질(제품) 무게를 매일 측정한다. 무게를 측정한 후, 소모된 양만큼의 먹이 및 살생물물질(제품)을 보충하여 먹이와 살생물물질의 양을 일정하게 유지한다. 엮어진 먹이는 정확한 먹이 소모 데이터를 얻기 위해 보충하고 무게를 측정해야 한다. 유출 먹이가 습하면 무게를 측정하기 전에 그것의 원래 습윤 함량에 대략적으로 맞을 때까지 건조시켜 측정한다.

**4.4.11** 시험 시 동물들은 소음이나 사람들의 활동과 같은 불필요한 스트레스를 받아서는 안 된다. 시험 동물실에서 사람들의 활동은 최소화해야 한다.

**4.4.12** 살생물물질(제품) 노출기간 동안 매일 관찰하여 사망한 개체의 사망일과 체중을 기록한다. 매일 죽은 동물은 제거하고 가능하면 발견되는 즉시 제거하는 것이 좋다.

**4.4.13** 사망한 개체는 폐기물보관실의 사체냉동고에 넣어 보관하며, 보관된 냉동 사체들은 의료폐기물 수거 업체에 의뢰하여 처리한다.

**4.4.14** 노출기간 종료 후, 살생물물질(제품) 먹이통을 제거하고 무처리 먹이는 그대로 남겨둔 채 5일간 추가 관찰하며, 매일 생존 개체들의 먹이 섭취량을 기록한다.

**4.4.15** 시험 종료 후 살아남은 개체의 체중을 기록하며, 시험 동물들의 비이상적인 행동들에 대해서도 기록한다.

4.4.16 시험 종료 후 살아남은 개체는 CO<sub>2</sub> 챔버 등을 이용해 안락사를 유도한 뒤, 폐기물 보관실 내 사체냉동고에 넣어 보관하며, 보관된 냉동 사체들은 의료폐기물 수거 업체에 의뢰하여 처리한다.

4.4.17 본 실험실시험은 적어도 한 번은 반복되어야 한다.



그림 26. 설치류의 독먹이 실험실시험의 예시

## 5.0 결과보고

### 5.1 계산

5.1.1 시험종료 시점에서의 치사 효과를 기준으로 한다.

5.1.2 대조군 및 처리군의 전체 사용 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 10%를 초과하는 경우 대상생물의 연령 및 질병 등으로 인해 활력이 떨어지거나, 시험방법 혹은 보관방법(예: 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 노출 시간 지난 후 최종 살서효과와 보정 치사율 값 및 살생물물질 (제품) 섭취량을 제출한다.

**5.2.2** 만일 시험 그룹 동물들 중 적어도 90%가 20일 이내에 사망하고 무처리 그룹 동물들 중 10% 미만이 20일 시험 기간 동안에 사망했다면 해당 제품은 만족할만한 효능을 보인 것으로 받아들일 수 있다.

**5.2.3** 시험 보고서는 그 시험 독제에서 주장하는 유효성분에 대한 화학 분석 성적서 (Certificate of Analysis), 그 원제로 만든 시험용 독제의 화학 분석서 그리고 해당 제품에서 주장하는 원제로 조제한 독먹이제의 화학 분석에 관한 보고서들이 함께 포함되는 것이 원칙이다. 이들 분석 자료들은 승인기관이 수용할 수 있는 방법을 이용해서 수행된 것들이어야 한다.

## 살생물제 효과·효능 시험방법 자료집 -구제제류

---

인       쇄 | 2022년 12월  
발       행 | 2022년 12월  
펴   넌   이 | 국립환경과학원 환경건강연구부 화학물질연구과  
주       소 | 인천광역시 서구 환경로 42(경서동 종합환경연구단지내)

---