



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2022-0043438
(43) 공개일자 2022년04월05일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 33/52 (2006.01) G01N 21/64 (2006.01)
(52) CPC특허분류
G01N 33/52 (2013.01)
G01N 21/6428 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2020-0126836
(22) 출원일자 2020년09월29일
심사청구일자 2020년09월29일

(71) 출원인
창원대학교 산학협력단
경상남도 창원시 의창구 창원대학교 20(퇴촌동)
광주과학기술원
광주광역시 북구 첨단과기로 123 (오룡동)
(72) 발명자
전준호
경상남도 양산시 물금읍 신주로 64, 102동 2502호(양산신도시현진에버빌)
박나리
경상남도 창원시 성산구 가음정로 59, 103동 1502호(가음동, 창원 센텀 푸르지오)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
정남진

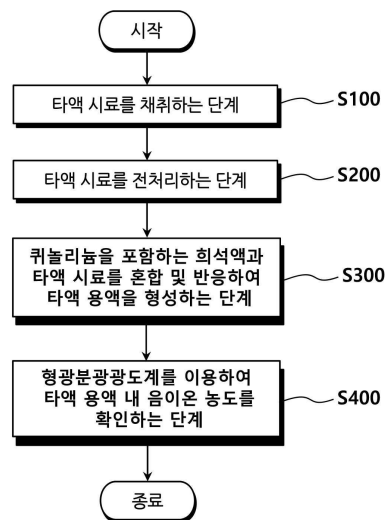
전체 청구항 수 : 총 7 항

(54) 발명의 명칭 타액 시료를 이용한 염화수소 가스 노출 피해정도 검사방법

(57) 요약

본 발명은 타액 시료를 이용한 유해가스 노출 피해정도 검사방법에 관한 것으로, 상기한 목적은, 타액 시료를 채취하는 단계; 상기 타액 시료를 전처리하는 단계; 취놀리늄을 포함하는 희석액과 타액 시료를 혼합 및 반응하여 타액 용액을 형성하는 단계; 형광분광광도계를 이용하여 상기 타액 용액 내 음이온 농도를 확인하는 단계;를 포함하는 것을 기술적 요지로 한다. 이에 의해 화학사고에 노출된 타액을 이용하여 유해가스 노출 정도에 의한 피해를 정량화할 수 있으며, 실제 화학사고 인근 지역의 가축 농가의 유해화학물질 노출 피해 발생 정도를 파악하고자 피해를 예측할 수 있는 타액 시료를 이용하여 유해가스 노출 피해정도를 예측할 수 있는 효과가 있다.

대표도 - 도1



(72) 발명자

차현진

부산광역시 강서구 식만로 247번길 6- 16

김상돈

광주광역시 광산구 첨단중앙로181번길 42-25, 9/4
(월계동, 첨단 선경아파트)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1485016738

과제번호 RE201606001

부처명 환경부

과제관리(전문)기관명 한국환경산업기술원

연구사업명 화학사고대응환경기술개발사업

연구과제명 화학사고 후 생태계오염 모니터링 및 생태영향 통합평가 기술 개발

기 여 율 1/1

과제수행기관명 광주과학기술원

연구기간 2016.07.01 ~ 2022.06.30

명세서

청구범위

청구항 1

타액 시료를 채취하는 단계;

상기 타액 시료를 전처리하는 단계;

퀴놀리늄을 포함하는 희석액과 전처리된 상기 타액 시료를 혼합 및 반응하여 타액 용액을 형성하는 단계;

형광분광광도계를 이용하여 상기 타액 용액 내 음이온 농도를 확인하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 타액 시료를 이용한 유해가스 노출 피해정도 검사방법.

청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 타액 시료를 채취하는 단계는,

입 안에 숨을 넣어 상기 숨 내로 타액 시료가 스며들게 하며, 입 안에서 상기 숨을 빼내어 상기 타액 시료를 채취하는 것을 특징으로 하는 타액 시료를 이용한 유해가스 노출 피해정도 검사방법.

청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 타액 시료를 전처리하는 단계는,

상기 타액 시료를 냉동보관 및 냉장보관하고, 이후 상기 타액 시료를 원심분리 및 여과를 수행하여 불순물이 제거되어 남은 상기 타액 시료만 얻는 것을 특징으로 하는 타액 시료를 이용한 유해가스 노출 피해정도 검사방법.

청구항 4

제 3항에 있어서,

상기 타액 시료를 전처리하는 단계는,

2,000G 이상에서 10 내지 40분간 원심분리 하고, 사이즈 10,000Da 이하의 필터를 이용해 여과를 수행하는 것을 특징으로 하는 타액 시료를 이용한 유해가스 노출 피해정도 검사방법.

청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 퀴놀리늄을 포함하는 희석액은,

퀴놀리늄(N-(ethoxycarbonylmethyl)-6-methoxy quinolinium bromide, MQAE) 표준용액과 인산 완충액을 혼합한 희석액인 것을 특징으로 하는 타액 시료를 이용한 유해가스 노출 피해정도 검사방법.

청구항 6

제 1항에 있어서,

상기 퀴놀리늄을 포함하는 희석액은,

퀴놀리늄의 농도가 40 내지 80 μ M인 것을 특징으로 하는 타액 시료를 이용한 유해가스 노출 피해정도 검사방법.

청구항 7

제 1항에 있어서,

상기 타액 용액 내 음이온 농도를 확인하는 단계는,

상기 타액 용액 상에 해리된 퀴놀리늄의 주변 음이온 방해정도에 따라 변하는 형광특성(fluorescence property)을 이용하여, 방해정도(quenching effect)를 정량화하는 것을 특징으로 하는 타액 시료를 이용한 유해가스 노출 피해정도 검사방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 타액 시료를 이용한 유해가스 노출 피해정도 검사방법에 관한 것으로, 더욱 상세하게는 화학사고에 노출된 가축의 타액을 이용하여 유해가스 노출정도에 따른 피해를 정량화할 수 있으며, 실제 화학사고 인근 지역의 가축 피해로 인한 사회적 파장이 큼으로, 이에 따른 화학사고 피해발생 정도를 파악하고자 피해를 예측할 수 있는 타액 시료를 이용한 유해가스 노출 피해정도 검사방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 일반적으로 화학 공장, 제조 공장, 제철 공장 등의 산업시설이나 실험실에서는 필연적으로 염화수소(HCl)와 같은 유해 화학물질을 사용하게 된다. 이러한 유해 화학물질이 외부로 누출될 경우, 인적 피해 및 환경 파괴 등의 문제점이 야기된다. 그러므로 산업시설의 유해 화학물질이 누출될 경우, 빠른 시일 내로 노출정보를 파악하여 피해 규모를 최소화하는 것이 매우 중요하다.

[0003] 국가표준인 KS와 국제기구인 OECD 및 ISO에서는 환경 중으로 유입된 유해 화학물질에 의한 독성 영향을 생물을 통해 평가하기 위한 표준 방법을 제안하고 있다. 하지만 대부분의 표준 방법들은 화학물질 노출에 의한 독성 위주의 실험을 통하여 제안하고 있으며, 환경 중 유해 화학물질의 노출로 인한 피해 정도에 대해서는 별도의 평가 방법을 이용하지 않고 있는 실정이다. 따라서 이와 같이 환경 중으로 유해 화학물질이 노출될 때의 이에 대해 피해 정량화를 위한 분석 표준화가 필요하다.

[0004] 일반적으로 생체 또는 생물 시료와 같이 분석하고자 하는 물질을 정량하기 위해서는 UV(ultraviolet), 기체 크로마토그래피(gas chromatography), 액체 크로마토그래피(liquid chromatography) 등을 사용하여 분석하는 기기분석법을 주로 이용한다. 이러한 기기분석은 정밀하게 분석가능한 장점이 있으나, 복잡한 전처리 과정이 필요하여 분석시간이 오래걸리고 숙련된 전문가만이 분석실과 같은 한정된 공간에서 사용가능하다는 단점이 있다.

[0005] 또한 적정법, 회화법 또는 분광광도계를 이용하여 분석하는 고전적인 일반 분석법들은 화학저울, 교반기, 가온 장치, 건조기 등을 포함하는 다수의 분석기구 및 초자 기구를 구비하여야 한다. 이는 전처리 과정이 복잡하거나 분석시간이 오래 소요되기 때문에 현장 진단용 분석 방법으로는 적합하지 못하다는 문제점이 있다. 이러한 일반 분석법은 고가의 분석장비 없이 측정할 수 있지만, 다수의 분석기구 및 초자기구들이 필요하기 때문에 현장분석에는 적합하지 못하다.

[0006] 한편, 사회적 요구와 기술 발달에 따라 화학사고 발생시 인근 현장에서 환경매체 및 가축의 피해 상태를 확인하여 적절한 처방이나 조치를 취하는 경우가 증가하고 있다. 그러나 일반적으로 화학사고로 인한 유해 화학물질의 노출시 발생하는 특정가스는 공기 중에서 금방 퍼지거나 분해되기 때문에, 이에 따른 피해를 식별하고 정량화하기는 어렵다.

[0007] 이를 해결하고자, 실제 화학사고 현장에서 피해 예상 정도를 산출할 수 있는 간소화된 분석 방법의 개발 필요성이 대두되고 있다. 특히 화학사고와 같이 긴급한 상황이 발생 시는 초동대응에 따라 피해 영향 범위가 달라지기 때문에, 빠른 시간 내에 대응하는 것이 중요하다. 따라서 비전문가도 사용이 용이하여 간단한 과정을 통해 피해의 정도를 빠르게 확인하고, 이에 맞춰 적절한 조치를 취할 수 있는 분석 방법이 필요한 실정이다.

선행기술문헌

특허문헌

[0008] (특허문헌 0001) 대한민국특허청 등록특허 제10-1030931호

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0009] 본 발명은 상기와 같은 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로, 화학사고에 노출된 타액을 이용하여 유해가스 노출정도에 의한 피해를 정량화할 수 있으며, 실제 화학사고 이후 인근 지역의 가축 피해로 인한 사회적 파장이 크므로, 이에 따른 화학사고 피해 발생 정도를 파악하고자 피해를 예측할 수 있는 타액 시료를 이용한 유해가스 노출 피해정도 검사방법을 제공하는 데 그 목적이 있다.

과제의 해결 수단

- [0010] 상기한 목적은, 타액 시료를 채취하는 단계; 상기 타액 시료를 전처리하는 단계; 퀴놀리늄을 포함하는 희석액과 전처리된 상기 타액 시료를 혼합 및 반응하여 타액 용액을 형성하는 단계; 형광분광광도계를 이용하여 상기 타액 용액 내 음이온 농도를 확인하는 단계;를 포함하는 것을 특징으로 하는 타액 시료를 이용한 유해가스 노출 피해정도 검사방법에 의해서 달성된다.
- [0011] 여기서, 상기 타액 시료를 채취하는 단계는, 입 안에 숨을 넣어 상기 숨 내로 타액이 스며들게 하며, 입 안에서 상기 숨을 빼내어 상기 타액 시료를 채취하는 것이 바람직하며, 상기 타액 시료를 전처리하는 단계는, 상기 타액 시료를 냉동보관 및 냉장보관하고, 이후 상기 타액 시료를 원심분리 및 여과를 수행하여 불순물이 제거되어 남은 상기 타액 시료만 얻는 것이 바람직하다.
- [0012] 또한, 상기 타액 시료를 전처리하는 단계는, 2,000G 이상에서 10 내지 40분간 원심분리 하고, 사이즈 10,000Da 이하의 필터를 이용해 여과를 수행하는 것이 바람직하며, 상기 퀴놀리늄을 포함하는 희석액은, 퀴놀리늄(N-(ethoxycarbonylmethyl)-6-methoxy quinolinium bromide, MQAE) 표준용액과 인산 완충액을 혼합한 희석액인 것이 바람직하며, 상기 퀴놀리늄을 포함하는 희석액은, 퀴놀리늄의 농도가 40 내지 80 μ M인 것이 바람직하다.
- [0013] 뿐만 아니라, 상기 타액 용액 내 음이온 농도를 확인하는 단계는, 상기 타액 용액 상에 해리된 퀴놀리늄의 주변 음이온 방해정도에 따라 변하는 형광특성(fluorescence property)을 이용하여, 방해정도(quenching effect)를 정량화하는 것이 바람직하다.

발명의 효과

- [0014] 상술한 바와 같이 본 발명에 따르면, 화학사고에 노출된 타액 시료를 이용하여 유해가스 노출정도에 의한 피해를 정량화할 수 있으며, 실제 화학사고 인근 지역의 가축 농가의 유해화학물질 노출 피해 발생정도를 파악하고자 피해를 예측할 수 있는 타액 시료를 이용하여 유해가스 노출 피해정도를 예측할 수 있는 효과가 있다.

도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 타액 시료를 이용한 유해가스 노출 피해정도 검사방법의 순서도이고,
- 도 2는 희석액 내에 퀴놀리늄 농도에 따른 염소이온(Cl^-)의 형광 감응세기를 나타낸 그래프이고,
- 도 3은 소의 타액(cow saliva) 시료를 전처리를 하기 전(without pretreatment)과 전처리를 한 후(pretreatment)의 퀴놀린에 대한 형광 감응 특성을 비교한 그래프이고,
- 도 4는 사람(human) 및 소(cattle)에서의 타액 시료 내 염소이온 농도를 측정한 결과를 나타낸 그래프이고,
- 도 5는 사람(human) 및 소(cattle)에서의 염화수소 가스 노출에 의한 타액 시료 속의 염소이온 농도 변화를 나타낸 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 이하, 본 발명의 기술적 사상을 첨부된 도면을 사용하여 더욱 구체적으로 설명한다. 첨부된 도면은 본 발명의 기술적 사상을 더욱 구체적으로 설명하기 위하여 도시한 일예에 불과하므로 본 발명의 기술적 사상이 첨부된 도면의 형태에 한정되는 것은 아니다.
- [0017] 도 1은 본 발명의 실시예에 따른 타액 시료를 이용한 유해가스 노출 피해정도 검사방법의 순서도이고, 도 2는 희석액 내에 퀴놀리늄 농도에 따른 염소이온(Cl^-)의 형광 감응세기를 나타낸 그래프이고, 도 3은 소의 타액(cow

saliva) 시료를 전처리를 하기 전(without pretreatment)과 전처리를 한 후(pretreatment)의 퀴놀린에 대한 형광 감응 특성을 비교한 그래프이고, 도 4는 사람(human) 및 소(cattle)에서의 타액 시료 내 염소이온 농도를 측정된 결과를 나타낸 그래프이고, 도 5는 사람(human) 및 소(cattle)에서의 염화수소 가스 노출에 의한 타액 시료 속의 염소이온 농도 변화를 나타낸 그래프이다.

[0018] 도 1에 도시된 바와 같이 본 발명의 실시예에 따른 타액 시료를 이용한 유해가스 노출 피해정도 검사방법은, 타액 시료를 채취하는 단계(S100), 타액 시료를 전처리하는 단계(S200), 퀴놀리늄을 포함하는 희석액과 전처리된 타액 시료를 혼합 및 반응하여 타액 용액을 형성하는 단계(S300), 형광분광광도계를 이용하여 타액 용액 내 염소이온 농도를 확인하는 단계(S400)를 포함한다.

[0020] 먼저, 타액 시료를 채취하는 단계(S100)는, 사람이나 가축으로부터 타액 시료를 채취하는 단계를 의미한다.

[0021] 타액 시료의 채취는 사람이나 가축의 입 안에 1 내지 10분 정도 숨을 넣어 채취하게 된다. 입 안에 숨을 넣어 물고 있게 하면 숨 내로 자연스럽게 타액이 스며들게 되며, 시간이 지난 후 입 안에서 숨을 빼내어 타액 시료를 얻을 수 있게 된다. 이러한 타액 시료 채취방법을 사용할 경우 사람이나 가축의 신체를 손상시키지 않으며, 비전문가도 거부감없이 누구나 손쉽게 타액 시료를 채취할 수 있게 된다. 만약 가축의 타액 시료 채취시 가축이 숨을 삼킬 우려가 있는 경우 구강 주변의 타액을 닦아내듯이 채취하는 것이 바람직하나, 그렇지 못할 경우에는 코니칼 튜브(conical tube) 용기에 채취해도 무방하다.

[0023] 타액 시료를 전처리하는 단계(S200)는, 타액 시료 내의 불순물을 제거하기 위해 전처리하는 단계를 의미한다.

[0024] 타액 시료 내에는 아밀라아제를 포함한 다양한 단백질과 기타 불순물이 포함된다. 이러한 불순물은 타액 시료를 이용하여 유해가스 노출정도를 측정하는 데 있어 방해요소에 해당하기 때문에 타액 시료 내의 불순물을 제거하는 전처리 단계를 수행한다.

[0025] 타액 시료를 전처리하는 방법으로는 분석 전까지는 원심분리기를 이용하여 숨 안에 채취된 타액 시료를 분리하여 타액 시료 상태 그대로 냉동 보관하고, 분석을 실시하면 냉장보관으로 시료를 옮겨 실험을 실시한다.

[0026] 이후 타액 시료 속 불순물을 제거하기 위해 막 여과 필터를 이용하여 추가로 원심분리 및 여과를 수행한다. 막 여과 필터(10,000Da 이하)에 타액 시료를 담아 원심 분리기를 이용하여 단백질과 같은 큰 고형의 불순물은 필터에 걸리고, 불순물이 제거된 타액 시료만 얻기 위함이다. 원심분리는 타액 시료를 2,000G 이상에서 10 내지 40 분간 원심분리하여 고형의 불순물과 타액 시료가 분리되도록 한다.

[0028] 퀴놀리늄을 포함하는 희석액과 타액 시료를 혼합 및 반응하여 타액 용액을 형성하는 단계(S300)는, 타액 시료를 전처리하는 단계(S200)에서 전처리를 통해 불순물을 제거한 타액 시료를 희석액에 천천히 떨어트리면서 혼합하고, 이를 반응시켜 타액 용액을 얻는 단계를 의미한다.

[0029] 희석액은 별도의 과정을 통해 준비되는데, 먼저 퀴놀리늄(N-(ethoxycarbonylmethyl)-6-methoxy quinolinium bromide, MQAE) 표준용액을 준비한다. 이는 퀴놀리늄이 인산 완충액에 희석된 상태의 용액을 의미한다. 퀴놀리늄(quinolinium)은 질소 원자에 알킬기 등이 결합해서 공유 결합 원자가 4의 양이온을 만들고 있는 화합물로, 퀴놀린핵의 질소가 암모늄형이 된 화합물을 의미한다. 즉, 퀴놀리늄은 퀴놀린 양이온에 해당한다.

[0030] 이와 별개로 인산 완충액을 준비하는데, 인산 완충액은 증류수에 제1인산나트륨수화물(sodium phosphate dibasic dehydrate, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, MW: 177.99) 또는 제2인산나트륨수화물(sodium phosphate monobasic dihydrate, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, MW: 156.01) 중 하나가 혼합된 용액이거나, 또는 증류수에 제1인산나트륨수화물과 제2인산나트륨수화물이 모두 혼합된 용액을 의미한다.

[0031] 도 2에 도시된 바와 같이 퀴놀리늄 표준용액과 인산 완충액을 혼합한 희석액은 퀴놀리늄의 농도가 증가할수록 농도별 감응 레벨이 뚜렷하게 나타나는 것을 확인할 수 있다. 이에 퀴놀리늄 농도는 40 내지 80 μM 가 되도록 희석액을 혼합하여 사용하는 것이 바람직하다. 희석액에서 퀴놀리늄의 농도가 40 μM 미만일 경우 감응도(sensitivity)가 떨어져 소량의 염소이온(Cl^-) 농도별 구별이 뚜렷하지 않은 단점이 있으며, 80 μM 를 초과할 경우 고가의 퀴놀리늄을 과량 사용하는 데 비해 감응도가 크게 증가하지 않기 때문에 산업에 적용하기

부적절하다. 이 중 희석액에 포함되는 가장 바람직한 퀴놀리늄의 농도는 40 μ M이다.

- [0033] 형광분광광도계를 이용하여 타액 용액 내 음이온 농도를 확인하는 단계(S400)는, 음이온 농도에 따라 달라지는 형광 세기를 이용하여 타액 용액 내 음이온의 농도를 확인하는 단계를 의미한다.
- [0034] 형광분광광도계(fluorescence spectrometer)는 물질에서 특정 파장 영역에서 빛을 흡수하고 방출되는 형광 정도를 나타내는 기구이다. 형광분광광도계의 측정은 분자가 높은 에너지를 가지는 짧은 파장의 빛을 흡수해서 긴 파장의 빛을 방출하면서 발광하는 현상을 이용하여 형광 세기를 측정한 것으로, 용액 속에 함유된 형광 물질의 농도와 빛의 세기는 비례 관계를 갖는다.
- [0035] 타액 용액 상에 해리된 퀴놀리늄은 주변에 음이온의 방해정도에 따라 형광 특성(fluorescence property)이 변하는데, 이러한 방해정도(quenching effect)를 정량하여 타액 용액 상의 음이온 농도를 측정할 수 있다. 여기서 음이온은 염화수소로부터 발생하는 염소이온(Cl^-)이 대표적이며, 염화수소 이외에도 음이온이 존재하는 다양한 유해가스에 본 발명을 적용 가능하다.
- [0036] 퀴놀리늄 주변에 염소이온의 농도가 증가할수록 염소이온의 방해로 인해 퀴놀리늄의 발광 강도가 감소하는 경향을 보인다. 일반적으로 정상적인 타액에는 10 내지 20mM의 염소이온이 존재하므로, 이 보다 높은 농도의 염소이온이 측정된 타액 용액에 대해서는 염화수소 가스 노출을 의심할 수 있다. 즉 타액 용액 내에서 염소이온의 농도가 30mM 이상일 경우 타액 시료가 채취된 사람이나 가축이 염화수소 가스로부터 노출 가능성을 의심할 수 있다.
- [0038] 도 3은 소의 타액(cow saliva) 시료를 전처리를 하기 전(without pretreatment)과 전처리를 한 후(pretreatment)의 퀴놀린에 대한 형광특성을 비교한 그래프이다. 해당 그래프는 희석액과 타액 시료를 혼합하여 타액 용액을 형성한 후 퀴놀리늄의 형광 특성을 측정한 것으로, 전처리를 하기 전에는 단백질과 같은 불순물이 존재하기 때문에 감응도가 떨어져 퀴놀리늄의 형광세기가 감소하거나, 혹은 염소이온 농도에 따른 감응 세기가 일정하지 않다는 것을 알 수 있다. 이에 비해 타액 시료를 전처리 한 후에는 퀴놀리늄의 형광 세기가 증가하며, 염소이온 농도별 일정한 감응 세기를 나타낸 것을 확인할 수 있다. 이를 통해 정확한 염소이온을 측정하기 위해서는 타액 시료의 전처리 과정이 반드시 필요하다는 것을 알 수 있다.
- [0039] 도 4는 사람(human) 및 소(cattle)에서의 타액 시료 내 염소이온 농도를 측정한 결과를 나타낸 그래프이다. 음식물의 섭취로 인하여 타액 시료 내에는 염소이온이 존재하기 때문에, 염소이온의 측정을 위해서는 바탕 시료의 염소이온 농도를 아는 것이 필요하다. 측정 결과, 사람의 타액 내에 평균적인 염소이온 농도는 13.2mM이고, 가축에서의 평균 염소이온 농도는 15.4mM인 것을 확인할 수 있다.
- [0040] 도 5는 사람(human) 및 소(cattle)에서의 염화수소 가스 노출에 의한 타액 시료 속의 염소이온 농도 변화를 나타낸 그래프이다. 이는 도 4의 결과 값과 같이 사람 및 소의 타액 시료 내에 존재하는 염소이온 농도를 제외한 염화수소 가스 노출에 의한 염소이온의 농도 만을 나타낸 것이다. 이는 기존에 타액 용액을 0mM로 기준 잡아 염소이온의 농도를 확인한 것이다.
- [0041] 여기에 염화수소 가스를 노출시키게 되는데, 노출시키는 염화수소 가스의 농도를 100 μ L, 300 μ L, 500 μ L로 증가시키고, 각각의 농도별로 시간이 지남에 따라 타액 용액 내에서 측정되는 염소이온의 농도가 점점 증가하는 것을 확인할 수 있다. 하지만 타액 용액 내에서의 염소이온은 증가하다가 어느 정도 이상이 되면 더이상 증가하지 않는 최대치를 보이게 되는데, 사람의 경우 타액 용액에서 22mM 농도의 염소이온을 확인할 수 있으며, 소의 경우 41mM 농도의 염소이온 농도를 확인할 수 있다.
- [0042] 따라서 타액 시료의 염소이온 농도를 0mM로 할 경우 타액 시료에서 20mM 이상의 염소이온이 확인되면 염화수소 가스에 노출된 것이고, 타액 시료가 가지는 기존 염소이온 농도를 포함하여 측정하는 경우 30mM 이상의 염소이온이 측정되면 이는 염소이온 가스에 노출되었다는 것을 확인할 수 있다.
- [0043] 이하에서는 본 발명의 실시예를 좀 더 상세하게 설명한다.
- [0045] <실시예>

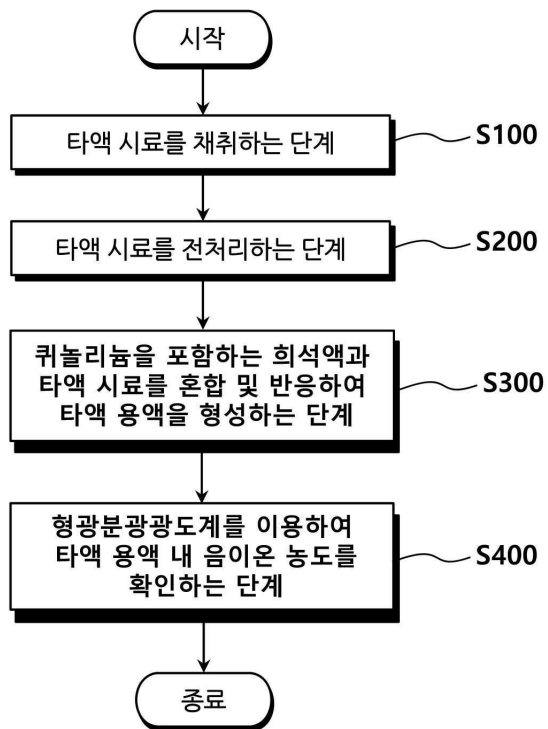
- [0046] 염화가스(HCl)를 노출시킨 소(cow)의 타액 시료(실험군)와, 염화가스를 노출시키지 않은 소의 타액 시료(대조군)을 채취한다. 통계분석의 신뢰도를 위해 각 시료군의 시료수는 3개 이상을 확보한다. 타액 시료의 채취는 실험용 장갑을 낀 손으로 타액 채취 솜을 사람 및 가축의 구강에 넣어 입안에서 1 내지 3분 동안 머무르게 한 후 꺼낸다. 얻어지는 타액 시료는 1ml 이상으로, KSI 3217 시료 용기에 넣어 보관한다.
- [0047] 채취한 타액 시료는 -20℃의 온도로 냉동보관 한다. 냉동보관한 타액 시료의 불순물인 부유물질을 제거하기 위해 원심분리 및 여과를 수행한다. 타액 채취기의 솜에 흡수되어 있는 타액 시료를 원심분리기에서 2,000G 이상으로 20분간 원심분리해 솜으로부터 타액 시료를 분리해 낸다. 분리된 타액 시료는 원심분리 막여과기(필터 사이즈 10,000Da 이하)로 옮겨 4,500G로 40분간 원심분리 시킨다.
- [0048] 5mM 인산 완충액($\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$, pH 7.2) 1.5ml와 40 μM 퀴놀리늄(quinolinium, MQAE) 표준용액 2ml를 혼합하여 형성한 희석액을 15ml 용량의 폴리프로필렌 튜브에 담고, 여과된 타액 시료 중 0.5ml를 분취하여 희석액에 한방울 씩 떨어트린다. 그 후 튜브의 스크류 마개를 닫고 10 내지 20초간 흔들어 완전히 혼합하고, 15분 동안 반응시킨 후 분석을 수행한다.
- [0049] 타액 시료를 포함하지 않는 대조군에 해당하는 바탕 시료는 타액을 제외한 5mM인산 완충액 0.5ml와 40 μM 퀴놀리늄 표준용액을 혼합 및 반응시켜 얻는다.
- [0050] 반응을 끝낸 타액 용액과 바탕 시료는 석영 셀에 담아 형광분광광도계(fluorospectrometer)를 이용하여 분석한다. 이때 흡광파장은 320nm, 발광파장은 460nm 값으로 설정한 후 발광파장의 형광강도를 측정한다. 측정값 보정을 위해 5mM 인산 완충액을 측정하여 영점 교정(zero calibration)한다. 그 다음 바탕 시료를 측정하여 퀴놀리늄 화합물의 최대 형광강도를 확인하고, 이후 차례대로 타액 용액을 측정한다.
- [0051] 결과 값은 도 5에 도시된 바와 같이 대조군에 해당하는 바탕 시료를 0의 값으로 잡고 확인한 결과, 염화수소의 노출 농도 및 시간이 증가할수록 타액 시료 내에 염소이온 농도가 증가하는 것을 알 수 있다. 이를 통해 공기 중에 확산되는 염화수소를 타액 시료를 통해 측정할 경우 노출 여부를 정확히 할 수 있다.
- [0053] 종래에는 유해 화학물질의 양을 측정하기 위해 고가의 분석장비를 사용하거나, 다수의 분석기구를 사용하기 때문에 현장분석에는 적합하지 못하였다. 또한 화학사고로 인한 유해 화학물질의 노출시 발생하는 특정가스는 공기 중에서 금방 퍼지거나 분해되기 때문에, 이에 따른 피해를 식별하고 정량화하기는 어려웠다.
- [0054] 이에 본 발명은 화학사고에 노출된 타액 시료를 이용하여 피해를 정량화할 수 있으며, 이는 비전문가도 사용이 용이하여 간단한 과정을 통해 피해의 정도를 빠르게 확인하고, 이에 맞춰 적절한 조치를 취할 수 있다. 특히 유해 화학물질 노출 이후에 발생하는 생태계 오염, 대기 오염, 가축 노출영향 등으로 인한 피해를 예측할 수 있다.
- [0055] 본 발명은 상기한 실시예에 한정되지 아니하며, 적용범위가 다양함은 물론이고, 청구범위에서 청구하는 본 발명의 요지를 벗어남이 없이 다양한 변형 실시가 가능한 것은 물론이다.

부호의 설명

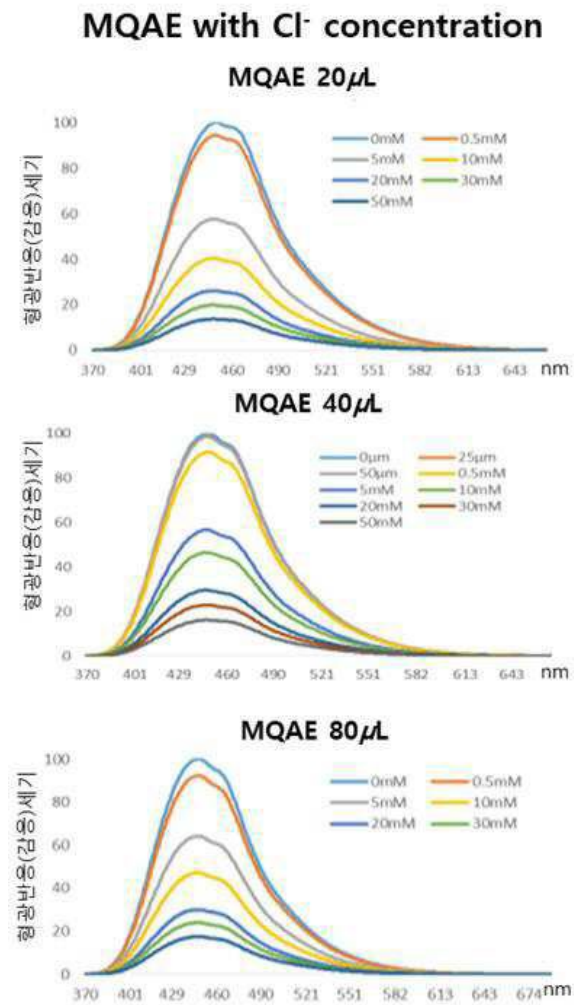
- [0056] S100: 타액 시료를 채취하는 단계
 S200: 타액 시료를 전처리하는 단계
 S300: 퀴놀리늄을 포함하는 희석액과 전처리된 타액 시료를 혼합 및 반응하여 타액 용액을 형성하는 단계
 S400: 형광분광광도계를 이용하여 타액 용액 내 음이온 농도를 확인하는 단계

도면

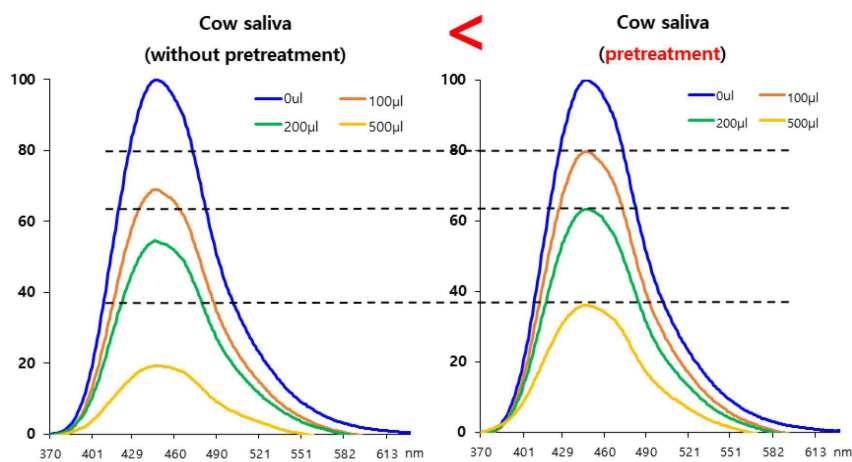
도면1



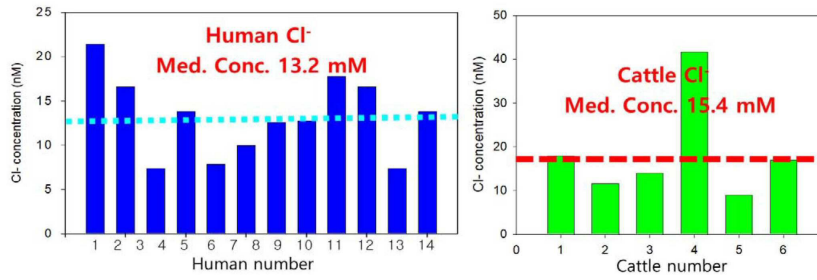
도면2



도면3



도면4



도면5

