



등록특허 10-2467827



(19) 대한민국특허청(KR)  
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2022년11월16일  
(11) 등록번호 10-2467827  
(24) 등록일자 2022년11월11일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)  
G01N 1/22 (2006.01) G01N 1/38 (2006.01)  
(52) CPC특허분류  
G01N 1/22 (2013.01)  
G01N 1/38 (2013.01)  
(21) 출원번호 10-2020-0110030  
(22) 출원일자 2020년08월31일  
심사청구일자 2020년08월31일  
(65) 공개번호 10-2022-0028693  
(43) 공개일자 2022년03월08일  
(56) 선행기술조사문헌  
JP2007522806 A\*  
KR1020190099198 A  
KR102028821 B1  
KR1020030086347 A  
\*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자  
연세대학교 산학협력단  
서울특별시 서대문구 연세로 50 (신촌동, 연세대학교)  
(72) 발명자  
황정호  
서울특별시 강남구 도곡로13길 19, 102동 901호(역삼동, 역삼동 롯데캐슬 노블)  
김형래  
서울특별시 양천구 목동서로 100, 303동 1204호(목동, 목동신시가지아파트3단지)  
강상모  
경기도 성남시 분당구 구미로144번길 8(구미동, 무지개마을동아아파트)  
(74) 대리인  
특허법인다나

전체 청구항 수 : 총 5 항

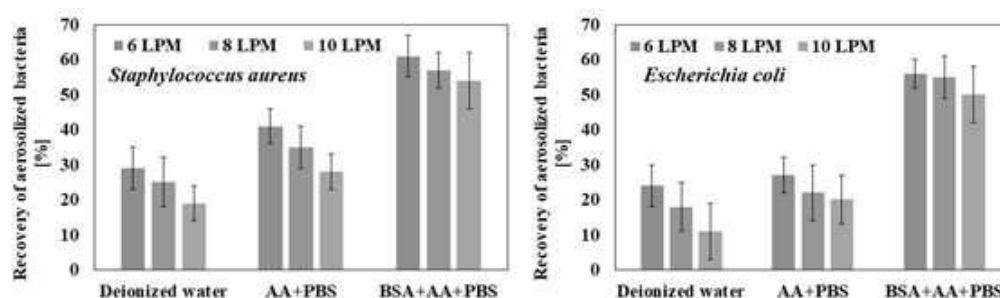
심사관 : 권준형

(54) 발명의 명칭 미생물 에어로졸화 과정 중 발생하는 손상 방지 방법

(57) 요약

본 발명은 미생물 에어로졸화 과정 중 발생하는 손상 방지 방법에 관한 것으로, 아스코르브산(Ascorbic acid, AA) 및 소혈청알부민(Bovine serum albumin, BSA)으로 이루어진 균으로부터 선택된 1종 이상이 함유된 인산완충 생리식염수(Phosphate buffered saline, PBS)용액이 들어있는 아토마이저(atomizer)에 미생물이 주입되는 제 1 단계; 압축공기를 아토마이저(atomizer)로 주입시켜 바이오에어로졸을 분사하는 제 2단계;를 포함하는 미생물 에어로졸화 과정 중 발생하는 손상 방지 방법을 제공한다.

대표도 - 도2



(52) CPC특허분류

G01N 2001/2223 (2013.01)

G01N 2001/386 (2013.01)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2019112014

과제번호 2013M3A6B207895933

부처명 과학기술정보통신부

과제관리(전문)기관명 한국연구재단

연구사업명 원천기술개발사업

연구과제명 [통합이지바로] (3세부)입자의 전기적 특성을 이용한 기상 감염성 병원체 액상포집  
기술개발 (3단계)(3/5)

기 여 율 1/1

과제수행기관명 연세대학교 산학협력단

연구기간 2020.01.01 ~ 2020.12.31

공지예외적용 : 있음

---

## 명세서

### 청구범위

#### 청구항 1

아스코르브산(Ascorbic acid, AA) 및 소혈청알부민(Bovine serum albumin, BSA)으로 이루어진 균으로부터 선택된 1종 이상이 함유된 인산완충생리식염수(Phosphate buffered saline, PBS)용액이 들어있는 아토마이저(atomizer)에 미생물이 주입되는 제 1단계;

압축공기를 아토마이저(atomizer)로 주입시켜 바이오에어로졸을 분사하는 제 2단계;를 포함하는 미생물 에어로졸화 방법.

#### 청구항 2

제 1항에 있어서,

상기 미생물은, 박테리아, 곰팡이 또는 바이러스인 것을 특징으로 하는,

미생물 에어로졸화 방법.

#### 청구항 3

제 1항에 있어서,

상기 제 1단계에서,

상기 아스코르브산의 농도는, 1 내지 2.5mg/ml인,

미생물 에어로졸화 방법.

#### 청구항 4

제 1항에 있어서,

상기 제 1단계에서,

상기 소혈청알부민의 농도는, 0.05 내지 0.15mg/ml인,

미생물 에어로졸화 방법.

#### 청구항 5

제 1항에 있어서,

상기 제 2단계에서,

압축공기의 주입 유량은 6 내지 10LPM인,

미생물 에어로졸화 방법.

## 발명의 설명

### 기술 분야

[0001] 본 발명은 미생물 에어로졸화 과정 중 발생하는 손상 방지 방법에 관한 것이다.

### 배경 기술

[0002] 대기 중에는 공기 외에 다양한 미세물질들이 존재하며, 이 중에는 곰팡이, 박테리아, 꽃가루 등과 같은 생물학적 기원의 입자, 즉 공기 중 부유 미생물 (바이오에어로졸 혹은 바이오미세먼지)이 포함된다 [비특허문헌 0001,

0002]. 대기 중에 존재하는 바이오에어로졸은 실내외 환경의 다양한 발생원으로부터 배출된다.

[0003] 바이오에어로졸은 대기오염과 질병의 원인으로 지적되고 있으며, 인체에는 감염성 질병, 알레르기, 호흡기 질환 등의 원인으로 작용하고 있다.[비특허문헌 0003~0005] 따라서 이러한 유해성 바이오에어로졸을 신속하고 효과적으로 탐지하는 기술이 요구된다[비특허문헌 0006].

[0004] 바이오에어로졸을 탐지하는 방법으로는 대기 중 바이오에어로졸을 샘플링하여 배지에 도말한 후 배양시켜 콜로니 수를 측정하는 방법과 미생물들이 가지고 있는 자가형광(autofluorescence)을 측정하는 방법 등이 있다[비특허문헌 0007, 0008].

[0005] 이러한 바이오에어로졸을 연구하기 위해, 원하는 물질과 조성으로 일정 공간에 바이오에어로졸을 분산시키는 방법이 끊임없이 시도되고 있다[비특허문헌 0009]. 공기 중 부유 미생물 (바이오에어로졸 혹은 바이오미세먼지)을 모사하기 위해 널리 쓰이는 방식으로 아토마이저를 이용하여 공기 중에 미생물을 에어로졸화하는 방법이 있다. 하지만 에어로졸화 과정에서 관성충돌, 산화 등으로 인해 약 90%의 미생물이 손상을 입어 생명력을 잃은 채로 발생되어 공기 중 살아있는 미생물을 모사하는데 한계가 있다[비특허문헌 0009].

## 선행기술문헌

### 비특허문헌

- [0006] (비특허문헌 0001) Environ. Int. 2015, 85, 254-272.  
 (비특허문헌 0002) Aerosol Sci. Technol. 2017, 51 (7), 787-800.  
 (비특허문헌 0003) Analyst 2011, 136 (22), 4641-4652.  
 (비특허문헌 0004) J. Aerosol Sci. 2018, 115, 108-112.  
 (비특허문헌 0005) Int J Hyg Environ Health., 2015 Oct;218(7):577-89.  
 (비특허문헌 0006) Kim, H. R., An, S., & Hwang, J. Aerosol-to-hydrosol sampling and simultaneous enrichment of airborne bacteria for rapid biosensing. ACS Sensors. (2020).  
 (비특허문헌 0007) Journal of Hazardous Materials, Vol.369, 684-690, 2019.  
 (비특허문헌 0008) Journal of Aerosol Science, Vol.115, 190-197, 2018.  
 (비특허문헌 0009) Journal of food engineering, 113(2), 194-200, 2012.

## 발명의 내용

### 해결하려는 과제

[0007] 본 발명은 미생물 에어로졸화 과정 중 발생하는 손상 방지 방법을 제공하는 것이다.

### 과제의 해결 수단

[0008] 본 발명은 상술한 목적을 달성하기 위해, 아스코르브산(Ascorbic acid, AA) 및 소혈청알부민(Bovine serum albumin, BSA)으로 이루어진 균으로부터 선택된 1종 이상이 함유된 인산완충생리식염수(Phosphate buffered saline, PBS)용액이 들어있는 아토마이저(atomizer)에 미생물이 주입되는 제 1단계; 압축공기를 아토마이저(atomizer)로 주입시켜 바이오에어로졸을 분사하는 제 2단계;를 포함하는 미생물 에어로졸화 방법을 제공한다.

[0009] 본 발명에서 미생물은, 박테리아, 곰팡이 또는 바이러스일 수 있다.

[0010] 본 발명에서 아스코르브산의 농도는, 1 내지 2.5mg/ml일 수 있다.

[0011] 본 발명에서 소혈청알부민의 농도는, 0.05 내지 0.15mg/ml일 수 있다.

[0012] 본 발명에서 압축공기의 주입 유량은 6 내지 10LPM일 수 있다.

## 발명의 효과

- [0013] 본 발명에 따르면, 미생물 에어로졸화 과정 중 발생하는 손상 방지 방법을 제공할 수 있다.
- [0014] 또한, 본 발명의 방법은 에어로졸화 과정에서 관성충돌, 산화 등으로 인한 미생물의 손상율을 크게 저하시킨다.

### 도면의 간단한 설명

- [0015] 도 1은 전체 공정의 개략도이다.
- 도 2는 Ascorbic acid (AA)와 Bovine serum albumin (BSA)가 각각 1.76 mg/ml, 0.1 mg/ml의 농도조건에서 에어로졸화 후의 미생물 생존율 그래프이다.
- 도 3은 Ascorbic acid (AA)와 Bovine serum albumin (BSA)가 각각 2.5mg/ml, 0.05 mg/ml의 농도조건에서 에어로졸화 후의 미생물 생존율 그래프이다.

### 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0016] 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.
- [0017] 본 발명은 미생물 에어로졸화 과정 중 발생하는 손상 방지 방법에 관한 것이다.
- [0018] 본 발명에 따른 미생물 에어로졸화 과정 중 발생하는 손상 방지 방법은 아스코르브산(Ascorbic acid, AA) 및 소혈청알부민(Bovine serum albumin, BSA)으로 이루어진 균으로부터 선택된 1종 이상이 함유된 인산완충생리식염수(Phosphate buffered saline, PBS)용액이 들어있는 아토마이저(atomizer)에 미생물이 주입되는 제 1단계; 압축공기를 아토마이저(atomizer)로 주입시켜 바이오에어로졸을 분사하는 제 2단계;를 포함할 수 있다.
- [0019] 본 발명에서 "아토마이저"는 물이나 증기를 공기 중에 분출하는 기기로 가습이나 세정할 때 사용하는 분무 노즐 등을 말한다.
- [0020] 본 발명에서 "바이오에어로졸"은 기체상의 미생물이나 생물에서 발생한 기체상의 모든 물질을 가리킨다. 예를 들어 살아있거나 죽은 미생물 (박테리아, 바이러스), 미생물 부스러기, 곰팡이포자, 꽃가루, 동식물에서 발생한 알레르기물질, 사람의 몸에서 나온 기침 및 체액, 그리고 미생물에서 발생한 독소 등을 포함한다. 바이오에어로졸은 자연에 무한히 많으며 존재 하는 곳도 집 안과 밖, 건물내부 및 외부, 그리고 동식물의 거주지 등등 다양하다. 또한 그 크기도 1 마이크론보다 작은 크기에서 100 마이크론까지 아우르고 있다.
- [0021] 먼저, 아스코르브산(Ascorbic acid, AA) 및 소혈청알부민(Bovine serum albumin, BSA)으로 이루어진 균으로부터 선택된 1종 이상이 함유된 인산완충생리식염수(Phosphate buffered saline, PBS)용액이 들어있는 아토마이저(atomizer)에 미생물을 주입한다.
- [0022] 미생물은 박테리아, 곰팡이 또는 바이러스일 수 있으나 이에 한정되는 것은 아니다.
- [0023] 인산완충생리식염수(Phosphate buffered saline, PBS)는 상용제품(1x, PBS buffer, 바이오세상)을 사용하였다. 해당 용액의 구성 성분은 다음과 같다. 137mM Sodium chloride, 2.7mM potassium chloride, 4.3mM sodium phosphate (dibasic, anhydrous), 1.4mM potassium phosphate (monobasic, anhydrous), sterile solution.
- [0024] 아스코르브산의 농도는, 1 내지 2.5mg/ml, 바람직하게는 1.5 내지 2mg/ml, 더욱 바람직하게는 1.76mg/ml일 수 있다. 해당 농도의 단위는 (아스코르브산mg)/(PBS용액ml)를 의미한다.
- [0025] 소혈청알부민의 농도는, 0.05 내지 0.15mg/ml, 바람직하게는 0.75 내지 1.25mg/ml, 더욱 바람직하게는 0.1mg/ml일 수 있다. 해당 농도의 단위는 (소혈청알부민mg)/(PBS용액ml)를 의미한다.
- [0026] 다음, 미생물이 주입된 PBS용액이 들어있는 아토마이저에 압축공기를 주입시켜 바이오에어로졸을 분사한다.
- [0027] 압축공기의 주입 유량은 6 내지 10LPM, 바람직하게는 6 내지 8LPM, 더욱 바람직하게는 6LPM일 수 있다.
- [0028] 압축공기는, 6LPM 미만에서는 에어로졸화 되지 않으며, 10LPM 이상에서는 미생물의 생존율이 급격하게 낮아진다.
- [0029] 이하, 본 발명의 이해를 돕기 위하여 바람직한 실시예 및 실험예를 제시한다. 그러나 하기의 실시예 및 실험예는 본 발명을 보다 쉽게 이해하기 위하여 제공되는 것일 뿐, 하기 실시예 및 실험예에 의해 본 발명의 내용이 한정되는 것은 아니다.
- [0030] <실시예 1> 공기주입유량에 따른 바이오에어로졸화 이후 박테리아 생존율

[0031] 준비된 박테리아 용액을 에어로졸화를 위해 아토마이저(자체 제작)의 물받이에 주입한다. 이때 아토마이저의 물통에는 Ascorbic acid (AA)와 Bovine serum albumin (BSA)가 각각 1.76 mg/ml, 0.1 mg/ml(AA 또는 BSA mg/PBS 용액 ml)의 농도로 Phosphate buffer saline (PBS) 용액과 함께 담겨있다. 압축공기를 일정 유량 이상 아토마이저에 주입하면 오리피스 주변에서 박테리아와 BSA 용액이 만나게 되어 박테리아가 BSA로 코팅되어 아토마이저를 통해 연속적으로 공급된다. 실험 결과는 도 2에 나타났다.

[0032] 이때 박테리아의 생존율은 기존 정제수(deionized water)를 이용하여 박테리아를 분사했을 때 보다 생존율이 증가함을 보였다. 아스코르브산(AA)은 압축공기의 산소 성분이 박테리아를 산화시켜 죽게 만드는 것을 막아주기 때문에 생존율이 약간 상승한 것으로 보인다. 소혈청알부민은(BSA) 박테리아를 코팅하여 에어로졸화 과정에서 발생하는 탈수를 방지하여 박테리아의 생존율을 증가시킨 것으로 보인다. 압축공기의 유량이 증가할수록 아토마이저 내부의 에어로졸화에 사용되는 충돌판에 박테리아가 부딪히며 기계적 손상도 증가하므로 생존율이 감소했다. 그람 양성균의 경우 세포벽의 구성이 음성균보다 기계적 화학적 스트레스에 강하여 더 높은 생존율을 보였다.

[0033] 다음으로, AA와 BSA가 각각 2.5mg/ml, 0.05 mg/ml의 농도로 PBS용액과 함께 담겨있을 때의 결과를 도 3에 나타냈다.

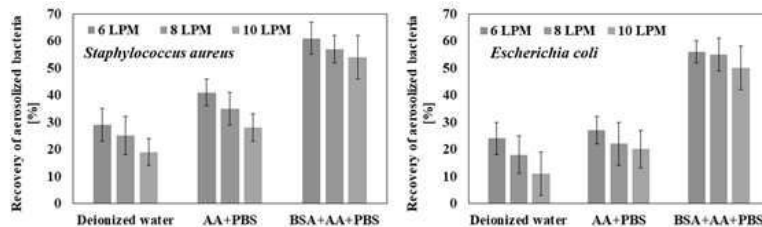
[0034] 도 2의 결과와 생존율의 경향성은 대체적으로 동일하였으나, 생존율은 낮았다. 따라서 PBS용액에 생존율을 높이기 위해서는 AA 및 BSA를 적정량 첨가하는 것이 중요하다.

## 도면

### 도면1

압축 공기 아토마이저 유입 → 코팅된 박테리아 연속적 공급

### 도면2



### 도면3

