(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2015 년 9 월 17 일 (17.09.2015)

WIPO | PCT

(10) 국제공개번호
WO 2015/137625 A1

(51) 국제특허분류:
A61L 2/28 (2006.01)

(21) 국제출원번호: PCT/KR2015/001127

(22) 국제출원일: 2015 년 2 월 4 일 (04.02.2015)

(25) 출원언어: 한국어

(26) 공개언어: 한국어

(30) 우선권정보:
10-2014-0029504 2014 년 3 월 13 일 (13.03.2014) KR

(71) 출원인: **고려대학교 산학협력단 (KOREA UNIVERSITY RESEARCH AND BUSINESS FOUNDATION)** [KR/KR]; 136-713 서울시 성북구 안암로 145, Seoul (KR).

(72) 발명자: **류지훈 (RYU, Jee-Hoon)**; 136-713 서울시 성북구 안암로 145 고려대학교 생명과학대학 동관 413 호, Seoul (KR). **서현선 (SEO, Hyun-Sun)**; 136-713 서울시 성북구 안암로 145 고려대학교 생명과학대학 동관 413 호, Seoul (KR).

(74) 대리인: **특허법인 다나 (DANA PATENT LAW FIRM)**; 135-936 서울시 강남구 역삼로 3 길 11 광성빌딩 신관 5 층, Seoul (KR).

(81) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 국내 권리의 보호를 위하여): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

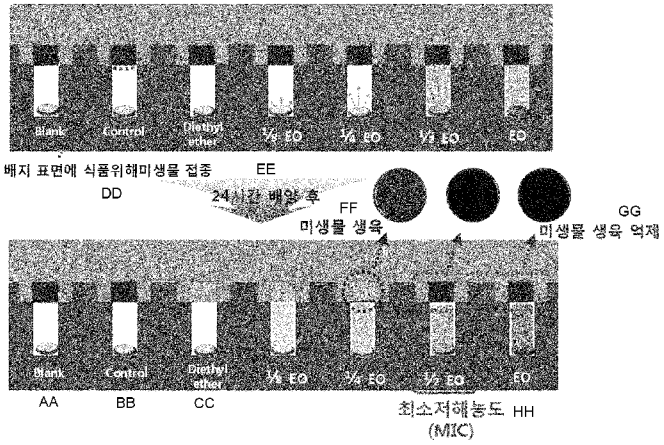
(84) 지정국 (별도의 표시가 없는 한, 가능한 모든 종류의 역내 권리의 보호를 위하여): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 유라시아 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 유럽 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

공개:

— 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

(54) **Title**: DEVICE FOR MEASURING ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF GAS AND METHOD FOR MEASURING ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF GAS

(54) **발명의 명칭** : 기체의 항균력 측정장치 및 기체의 항균력 측정방법



AA ... Blank
BB ... Control
CC ... Diethyl ether
DD ... Inoculation of food harmful microorganism to surface of culture medium
EE ... After 24-hour cultivation
FF ... Microorganism growth and development
GG ... Inhibition of microorganism growth and development
HH ... Minimal inhibitory concentration (MIC)

(57) **Abstract**: The present invention relates to a device for measuring the antimicrobial activity of a gas and a method for measuring the antimicrobial activity of a gas. The present invention can be used as a standardized device for measuring the antimicrobial activity of a gas or as a standardized method for measuring the antimicrobial activity of a gas as the present invention is capable of constantly maintaining the concentration of a gas and identifying the growth and development of microorganisms objectively through a color change of a microorganism culture medium containing a pH indicator.

(57) **요약서**: 본 발명은 기체의 항균력 측정장치 및 기체의 항균력 측정방법에 관한 것이다. 본 발명은 기체의 농도를 일정하게 유지할 수 있고, pH 지시약을 포함하는 미생물 배지의 색변화를 통해, 객관적으로 미생물의 생육을 확인할 수 있어, 표준화된 기체의 항균력 측정장치 또는 기체의 항균력 측정방법으로 이용할 수 있다.

WO 2015/137625 A1

명세서

발명의 명칭: 기체의 항균력 측정장치 및 기체의 항균력 측정방법

기술분야

[1] 본 발명은 기체의 항균력 측정장치 및 기체의 항균력 측정방법에 관한 것이다.

[2]

배경기술

[3] 최근 항균기체를 이용한 식품 위해 미생물(식중독균 또는 식품부패균)의 살균기술이 각광 받고 있다. 기체상의 항균물질들은 액체상의 항균물질에 비하여 항균력이 우수하고, 식품에 잔류하지 않아서 인체에 대한 위해 가능성이 적다. 또한, 식품의 품질특성에 대한 변화도 매우 제한적인 장점이 있다. 하지만 기체상의 항균물질들에 대한 연구가 상대적으로 미비하게 진행이 되었기 때문에, 아직 표준화된 항균력 측정방법이 개발되지 않은 실정이다.

[4] 표준화된 기체의 항균력 측정방법이 개발되어 있지 않기 때문에, 연구자들은 고육지책으로 액상의 항균물질의 항균활성 측정방법인 디스크 확산법(disk diffusion assay), 웰 확산법(well diffusion assay), 희석 감수성 검사(dilution susceptibility test) 등의 방법을 변형하여 최소저해농도(minimal inhibitory concentration, MIC) 및 최소치사농도(minimal lethal concentration, MLC)를 사용하고 있다.

[5] 현재 기체의 항균활성을 측정한 연구는 거의 전무한 상태이다. 이에, 연구자들이 사용하고 있는 기체의 항균활성 측정방법은 위에 열거된 방법을 응용한 것으로서, 기체상 확산법(vapor phase diffusion assay, Du et al., 2009), 기체 확산법(vapor diffusion assay, Nedorostova et al., 2009), 디스크 휘발법(disk volatilization method, Tyagi and Malik, 2010), 기체상 분석법(vapor phase assay, Becerril et al., 2007) 또는 한천 기체 분석법(agar vapor assay, Inouye et al., 2007) 등 다양한 명칭으로 일컬어지고 있다. 본 발명에서 도 1a 내지 1c는 종래 항균물질 측정 방법을 나타내는 도면으로, 종래 항균물질 측정 방법은 표준화된 실험조건이 확립되지 않아 같은 항균기체를 같은 방법으로 측정하더라도 세부적인 실험조건에 따라 다른 최소저해농도가 측정되는 문제점이 있다.

[6] 이에, 위해 미생물의 저감화를 위하여, 표준화된 기체의 항균력 측정방법 및 장치가 절실히 요구되고 있다.

[7]

발명의 상세한 설명

기술적 과제

[8] 이에, 본 발명은 기체의 항균력 측정장치 및 기체의 항균력 측정방법을 제공하고자 한다.

[9]

과제 해결 수단

[10] 본 발명자는 표준화된 기체의 항균력 측정방법 및 장치를 개발하고자 연구를 거듭했다. 이에, 미생물 배지의 색 변화를 통해 객관적으로 미생물의 생육을 확인할 수 있고, 기체 상의 항균물질이 일정한 농도로 미생물과 접촉할 수 있어, 보다 정확하고 표준화된 기체의 항균력 측정장치 및 측정방법으로 사용할 수 있음을 확인하고 본 발명을 완성하였다.

[11]

[12] 본 발명에서는 항균물질을 수용하는 기체발생부를 포함하는 하부용기; 및

[13] 상기 하부용기의 상부에 위치하고, 상기 기체발생부에서 발생하는 기체상의 항균물질과 접촉하는 미생물 배지를 수용하는 미생물 배지부를 포함하는 상부용기;를 포함하는 기체의 항균력 측정장치를 제공한다.

[14] 또한, 본 발명에서는 전술한 기체의 항균력 측정장치를 이용한 기체의 항균력 측정 방법을 제공한다.

[15]

발명의 효과

[16] 본 발명에 따른 기체의 항균력 측정창치를 사용하면, 기체의 농도를 일정하게 유지할 수 있고, pH 지시약을 포함하는 미생물 배지의 색변화를 통해, 객관적으로 미생물의 생육을 확인할 수 있다.

[17] 따라서, 본 발명에 따른 측정장치는 표준화된 기체의 항균력 측정장치로서 이용될 수 있다.

[18]

도면의 간단한 설명

[19] 도 1은 종래의 항균기체 활성 측정 방법 및 장치 모식도이다.

[20] 도 2a는 본 발명의 따른 측정장치를 사용한 항균기체 최소저해농도 측정 원리 모식도이다.

[21] 도 2b는 본 발명에 따른 측정장치를 사용한 항균기체 최소치사농도 측정 원리 모식도이다.

[22] 도 3a 내지 3g는 본 발명의 일례에 따른 기체의 항균력 측정장치의 하부용기(100)를 도시한 도면이다.

[23] 도 4a 내지 도 4c는 본 발명의 일례에 따른 기체의 항균력 측정장치의 상부용기(200)를 도시한 도면이다.

[24] 도 5a 내지 5b는 본 발명의 일례에 따른 기체의 항균력 측정장치의 중간 커버(400)를 도시한 도면이다.

[25] 도 6a 내지 6g는 본 발명의 일례에 따른 상부용기와 하부용기의 적용 예를 도시한 도면이다.

[26] 도 7a 내지 7b는 본 발명의 일례에 따른 중간 커버의 적용 예를 도시한 도면이다.

[27] 도 8은 본 발명의 일례에 따른 기체의 항균력 측정장치를 나타낸 사진이다.

[28] 도 9 및 도 10는 본 발명의 일례에 따른 바이알(vial) 형태로 제작된 상부용기 및 하부용기의 사진 및 도시한 도면이다.

[29] 도 11은 실시예 1의 최소저해농도를 측정한 결과를 나타낸 사진이다.

[30]

발명의 실시를 위한 최선의 형태

[31] 이하, 첨부된 도면들을 참조하여 본 발명을 상세히 설명한다. 이 과정에서 도면에 도시된 구성요소의 크기나 형상 등은 설명의 명료성과 편의상 과장되게 도시될 수 있다. 또한 본 발명의 구성 및 작용을 고려하여 특별히 정의된 용어들은 사용자, 운용자의 의도 또는 관례에 따라 달라질 수 있다. 이러한 용어들에 대한 정의는 본 명세서 전반에 걸친 내용을 토대로 내려져야 한다.

[32] 그리고 본 발명의 사상은 제시되는 실시예에 제한되지 아니하고 본 발명의 사상을 이해하는 당업자는 동일한 사상의 범위 내에서 다른 실시예를 용이하게 실시할 수 있을 것이나, 이 또한 본 발명의 범위 내에 속함은 물론이다.

[33]

[34] 본 발명은 항균물질을 수용하는 기체발생부를 포함하는 하부용기; 및

[35] 상기 하부용기의 상부에 위치하고, 상기 기체발생부에서 발생하는 기체상의 항균물질과 접촉하는 미생물 배지를 수용하는 미생물 배지부를 포함하는 상부용기;를 포함하는 기체의 항균력 측정장치에 관한 것이다.

[36]

[37] 본 발명에 따른 기체의 항균력 측정장치의 하부용기는 항균물질을 수용하기 위한 기체발생부를 포함하며, 상기 기체발생부는 홈의 형상을 지닐 수 있다. 상기 기체발생부는 하나 이상 형성될 수 있는데, 이 경우 동일한 홈의 형상을 가지는 기체발생부가 일정 간격으로 복수개 형성될 수 있다.

[38] 상기 하부용기는 측면에 홈 및 돌기가 형성될 수 있다. 상기 홈 및 돌기는 하부용기를 복수개 사용할 때, 연결을 용이하게 하기 위한 것으로, 일측면에는 돌기가 형성되고, 상기 일측면에 대응되는 타측면에는 홈이 형성되어, 상기 하부용기의 돌기에 다른 하부용기의 홈을 연결할 수 있다.

[39] 또한, 상기 하부용기는 하부용기가 삽입되는 외부용기를 추가로 포함할 수 있다. 상기 외부용기는 단단한 재질로 구성되어 하부용기의 내구성을 보완할 수 있다. 상기 외부용기는 복수 개로 구획된 수용공간을 가짐으로써, 상기 외부용기 각각의 수용공간에 하부용기가 삽입되는 구성을 가질 수도 있다.

[40] 이러한 외부용기의 측면에는 홈 및 돌기가 형성될 수 있는데, 상기 외부용기의 홈 및 돌기는 전술한 하부용기와 같은 방법으로 형성되어 외부용기를 복수개 연결할 수 있다. 상기 외부용기에 홈 및 돌기가 형성될 경우, 외부용기에 삽입되는 하부용기는 홈 및 돌기가 형성되지 않을 수 있다.

[41] 또한, 본 발명의 하부용기에는 후술할 상부용기의 체결돌기와 체결되어 상기

하부용기 및 상부용기를 결합시키기 위한 단턱이 형성될 수 있다. 상기 단턱은 하부용기 및 상부용기를 효과적으로 밀봉시킬 수 있어, 항균물질의 기체를 일정 농도로 유지시킬 수 있으며, 하부용기와 상부용기의 거리를 일정하게 고정시킬 수 있어, 항균물질과 미생물 배지 사이의 거리가 달라지는 것에 따른 오차를 줄일 수 있다.

[42] 또한, 상기 하부용기에는 하부용기 및 상부용기를 밀봉시켜 항균물질의 기체가 용기 밖으로 흐르는 것을 방지하기 위한 밀봉부재 수용홈이 형성될 수 있다. 상기 밀봉부재 수용홈은 밀봉부에 포함된다. 구체적으로는, 하부용기는 하나의 기체발생부 당 하나 이상의 밀봉부재 수용홈을 포함할 수 있으며, 상기 밀봉부재 수용홈에는 오링 등의 밀봉부재가 삽입될 수 있다.

[43] 본 발명의 도 3은 본 발명의 일례에 따른 하부용기를 도시한 도면으로, 상기 하부용기는 예를 들어, 3a 내지 3g의 구조를 지닐 수 있다. 상기 도 3에서는 하부용기가 단턱(101) 및 밀봉부재 수용홈(502)를 가질 경우를 도시하였다.

[44] 상기 도 3a는 하부용기가 하나의 기체발생부(102)를 가진 경우를 나타내며, 도 3B는 하부용기가 3a와 같이 하나의 기체발생부(102)를 가지며, 외부용기(100^a)에 삽입된 경우를 나타낸다. 상기 3b에서와 같이, 하부용기가 외부용기(100^a)에 삽입될 경우, 상기 외부용기를 내부용기(100^b)라 지칭할 수 있다.

[45] 또한, 도 3c는 외부용기가 하나의 기체발생부(102)를 가지며, 상기 외부용기의 측면에 돌기(100") 및 홈(100')이 형성된 경우를 나타낸다. 또한, 도 3d는 외부용기(100a)를 가지는 도 3B는 하부용기의 측면에 돌기(100") 및 홈(100')이 형성된 경우를 나타낸다. 상기 도 3d에 나타나듯이, 외부용기(100a)가 형성될 경우, 내부용기(100b)는 돌기(100") 및 홈(100')이 형성되지 않을 수 있다. 또한, 상기 도에서는 일측면 및 일측면에 대응되는 타측면에 홈 또는 돌기가 형성된 경우를 도시하였으나, 연결되는 두 개의 측면에 홈이 형성되고, 나머지 두 개의 측면에 돌기가 형성되는 구성을 가질 수도 있다.

[46] 또한, 도 3e 내지 3g는 기체발생부가 하나 이상 형성된 경우를 도시한다. 도 3e에 나타난 바와 같이, 하부용기(100)는 복수개의 기체발생부(102)가 형성되거나, 도시하지는 않았으나 하나의 기체발생부(102)가 형성된 하부용기(100)가 복수개 연결된 구조를 가질 수 있다. 이때, 하부용기는 일측면 및 타측면에 돌기 및 홈이 형성되어 있어서 하나의 하부용기의 돌기에 다른 하부용기의 홈이 결합된 구조를 가질 수 있다. 또한, 도 3f에 나타난 바와 같이, 하나의 기체발생부(102)가 형성된 하부용기(100)가 복수개 연결되며, 상기 연결된 하부용기(100^b)는 외부용기(100^a)에 삽입된 구조를 가질 수 있다. 또한, 도 3g에 나타난 바와 같이, 외부용기(100^a)는 복수 개로 구획된 수용공간을 가지며, 상기 외부용기의 각각의 수용공간에 기체발생부를 포함하는 하부용기, 즉 내부용기(100^b)가 삽입된 구조를 가질 수 있다.

[47] 상기 전술한 하부용기, 즉 하부용기의 기체발생부에는 항균물질이 수용된다.

[48] 상기 항균물질은 항균성 기체를 발생시키고, 발생된 기체가 인체 유해균, 식품

부패균 또는 발효균 등 제어하고자 하는 모든 균의 생장 및 발육을 억제하거나 죽일 수 있는 물질이라면, 특별히 제한되지 않는다.

[49] 구체적으로는, 상기 항균물질은 항균 기체 또는 휘발성 항균물질일 수 있다. 상기 항균 기체의 종류는 특별히 제한되지 않으며, 아황산가스(Sulfur dioxide, SO_2), 오존가스(Ozone gas), 이산화탄소(Carbon dioxide, CO_2), 일산화질소(Nitric oxide, NO) 및 황화수소(Hydrogen sulfide, H_2S)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상일 수 있으며, 상기 휘발성 항균물질은 정유, 휘발성 유기물 또는 휘발성 무기물일 수 있다. 상기 정유는 시나몬, 레몬, 갈릭, 레몬글라스, 사이프러스, 파인, 블랙페퍼, 세이지, 시스터스, 시트로넬라, 클라리 세이지, 타임 스페니쉬, 티트리, 스피아민트, 클로브, 타임 리나룰, 오레가노, 페퍼민트 및 타임 티몰 등으로 이루어진 군으로 선택되는 어느 하나일 수 있고, 휘발성 유기물은 초산, 아세트산, 젖산나트륨, 소르빈산, 벤조산, 트리클로산, 에탄올 또는 에틸아세테이트일 수 있으며, 휘발성 무기물은 이산화 염소 또는 과산화수소일 수 있다.

[50]

[51] 본 발명에 따른 기체의 항균력 측정장치는 상부용기를 포함하며, 상기 상부용기는 하부용기의 상부에 위치한다. 상기 상부용기는 미생물 배지부를 포함하는데, 상기 미생물 배지부에는 미생물 배지가 수용되어 전술한 하부용기의 기체발생부에서 발생하는 기체상의 항균물질과 접촉한다. 또한, 상기 상부용기에는 체결돌기가 형성되어 하부용기의 단턱과 체결될 수 있다.

[52] 구체적으로, 상부용기의 상기 미생물 배지부는 상기 체결돌기의 내측면에 형성될 수 있다.

[53] 상기 상부용기는 구조는 하부용기와 체결된다면, 특별히 제한되지 않으며, 하부용기의 구조에 따라 달라질 수 있으며, 구체적으로 하부용기의 기체발생부의 개수에 따라 상부용기의 미생물 배지부의 개수가 결정될 수 있다.

[54] 또한, 상기 상부용기는 측면에 홈 및 돌기가 형성될 수 있다. 상기 홈 및 돌기는 상부용기를 복수개 사용할 때, 연결을 용이하게 하기 위한 것으로, 일측면에는 돌기가 형성되고, 상기 일측면에 대응되는 타측면에는 홈이 형성되어, 상기 상부용기의 돌기에 다른 하부용기의 홈을 연결할 수 있다. 특히, 상기 상부용기의 측면에 홈 및 돌기가 형성될 경우, 하부용기도 상기 홈 및 돌기가 형성될 수 있으며, 상부용기 및 하부용기의 홈 및 돌기는 서로 연결되도록 형성되는 것이 바람직하다.

[55] 본 발명에서 도 4는 본 발명의 일례에 따른 상부용기를 도시한 도면으로, 상기 상부용기는 예를 들어, 4a 내지 4c의 구조를 지닐 수 있다. 상기 도 4에서 상부용기는 체결돌기(201) 및 미생물 배지부(202)를 포함한다.

[56] 본 발명에서 도 4a는 미생물 배지부(202)가 하나일 경우를, 도 4b 및 도 4c는 미생물 배지부(202)가 복수일 경우를 나타내며. 특히 도 4c는 상부용기의 측면에 홈 및 돌기가 형성된 구조를 나타낸다.

[57] 본 발명에 따른 상부용기의 미생물 배지부의 미생물 배지는 고영양배지, 미생물 및 pH 지시약을 포함할 수 있다.

[58] 상기 고영양배지는 미생물이 생장 및 발육하는데 필요한 영양물질을 포함하는 배지이다. 상기 영양물질은 글루코스, L-아라비노스, 과당, D-자일로스, D-만노스, 갈락토스, D-트레할로오스, 셀로비오스, M-만니톨, 글리세린, 이노시톨, 솔비톨 및 L-람노스 등으로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 단당류일 수 있다.

[59] 상기 영양물질은 함량은 특별히 제한되지 않으며, 예를 들어, 고영양배지 100중량부 대비 0.01 내지 3 중량부를 포함할 수 있다.

[60] 상기 미생물은 인체 유해균, 식품 부패균 및 발효균 등 제어하고자 하는 모든 목표 미생물을 사용할 수 있다. 예를 들어, 장출혈성 대장균(*Escherichia coli* O157:H7) 또는 리스테리아균(*Listeria monocytogenes*) 등의 식중독균, 아스페르길루스 플라부스 (*Aspergillus flavus*) 등의 곰팡이 또는 사카로미세스 세레비시아(*Saccharomyces cerevisiae*) 등의 효모 등을 사용할 수 있으나, 이에 제한되지 않는다.

[61] 상기 미생물은 배지에서 증식함에 따라 미생물 배지의 색 변화가 잘 나타날 수 있는 정도로 포함될 수 있다. 이에 제한되지 않으나, 예를 들어, 미생물의 농도는 10^5 내지 10^7 cfu/ml 일 수 있다. 상기 미생물이 10^5 cfu/ml 미만으로 접종되면 배지의 색변화가 잘 일어나지 않을 우려가 있고, 미생물이 10^7 cfu/ml 초과하면, 항균물질의 항균력이 낮게 측정될 우려가 있다.

[62] 또한, 상기 pH 지시약은 미생물이 증식하는 과정에서 분비하는 분비물로 인한 pH의 변화를 판별하기 위해 사용하는 것으로, pH의 변화를 판별할 수 있다면 그 종류는 특별히 제한되지 않는다. 일반적으로 고영양배지의 pH는 7.0이고, 미생물을 증식 시킨 후의 배지의 pH는 4.0 내지 6.8이다. 따라서 본 발명에서 사용되는 pH 지시약은 pH 6.8 이하에서 변색범위를 갖는 것을 사용할 수 있다. 예를 들어, 브로모크레졸 퍼플(bromocresol purple), 브로모크레졸 그린(bromocresol green), 브로모페놀 블루(bromophenol blue), 페놀레드(phenol red), 알리자린옐로우 R, 크레졸 레드 및 뉴트럴레드(neutral red)으로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나일 수 있으며, 구체적으로 브로모크레졸 퍼플(bromocresol purple)일 수 있다.

[63] 상기 pH 지시약은 고영양배지의 100 중량부 대비 0.005 내지 0.2 중량부, 0.005 내지 0.1 중량부, 0.005 내지 0.05 중량부, 0.01 내지 0.05 중량부 또는 0.02 내지 0.03 중량부로 포함될 수 있다. 상기 범위 내로 포함되면 미생물 증식여부에 따라 배지의 색이 변하게 되어, 미생물이 자라지 않은 배지의 항균물질 농도를 용이하게 확인할 수 있다. 구체적으로, pH 지시약이 0.005 중량부 미만으로 포함되면, 배지 발색이 약화될 우려가 있고, 0.2 중량부를 초과하면, 미생물의 생육 억제가 일어나거나 미생물이 증식된 배지에서 발색변화의 관찰이 용이하지 않을 우려가 있다.

[64] 즉, 본 발명에 따른 기체의 항균력 측정 장치는 미생물 배지에 첨가된 pH 지시약을 통해, 미생물의 생장 및 발육을 상기 미생물 배지의 색변화를 통해 객관적으로 확인할 수 있다.

[65]

[66] 본 발명에 따른 기체의 항균력 측정장치는 전술한 하부용기 및 상부용기를 보다 단단하게 연결하기 위해, 상기 하부용기 및 상부용기를 연결하고 고정하는 고정부를 추가로 포함할 수 있다.

[67] 고정부는 하부용기 및 상부용기를 연결하고 고정할 수 있다면 특별히 제한되지 않는다. 예를 들어, 조임나사, 클립 또는 매미고리를 사용할 수 있으며, 구체적으로는 조임나사를 사용할 수 있다.

[68] 이러한 고정부는 도 3 및 도 4에 나타나 있다. 상기 도 3 및 4에 나타난 바와 같이 고정부는 나사홀(500)로 구성되는데, 상기 나사홀(500)은 상부용기 및 하부용기를 관통하도록 형성되어, 나사홀(500)에 조임나사 등이 위치하여 상기 상부용기 및 하부용기를 고정 및 결합시킬 수 있다.

[69] 한편, 본 발명에서 도 6a 내지 6g는 전술한 하부용기와 상부용기를 적용한 예를 도시한 도면이다. 구체적으로 도 6a 내지 6g는 각각 도 3a 내지 3g의 하부용기(100)를 대상으로, 상기 하부용기(100)에 대응하는 상부용기(200)를 사용한 것이다.

[70] 상기 도 6에서는 나사홀(500)에 조임나사(501)을 위치시켜 상기 상부용기(100) 및 하부용기(200)을 결합하였으며, 밀봉부재 수용홈(502)에 밀봉부재(503)를 수용하여 기밀성을 향상시켰다.

[71]

[72] 한편, 본 발명에 따른 기체의 항균력 측정장치는 전술한 상부용기 및 하부용기 외에, 하부용기의 기체발생부를 밀폐시키는 중간 커버를 추가로 포함할 수 있다. 상기 중간 커버는 항균물질에서 발생되는 기체를 한정된 공간 안에서 포화된 상태로 존재하게 함으로써, 일정한 농도의 기체가 미생물과 접촉할 수 있도록 할 수 있다. 또한, 복수개의 기체발생부를 사용할 경우, 상기 중간 커버를 사용하여 각 기체발생부에서 항균물질의 기체와 미생물 배지의 접촉 시간을동일하게 하여, 보다 정확하게 기체의 항균력을 측정할 수 있다.

[73] 상기 중간 커버는 하부용기의 일측면에 형성된 관통홀을 통해 탈착 가능하게 삽입되는 구성을 가질 수 있다.

[74] 구체적으로, 상기 중간 커버는 조절부 및 가림부로 구성될 수 있는데, 조절부는 하부용기의 관통홀에 상기 중간 커버의 탈착을 용이하게 하기 위한 손잡이 역학을 할 수 있으며, 상기 조절부를 통해 외부에서 기체발생부의 계폐를 조절할 수 있다. 또한, 가림부는 상기 관통홀을 통해 하부용기의 기체발생부로 삽입되고, 기체발생부를 막아 항균물질의 기체가 미생물 배지와 접촉하는 것을 차단할 수 있다. 바람직하게 상기 중간 커버는 하부용기의 단턱 부분을 관통하도록 관통홀이 형성될 수 있다.

[75] 본 발명에서 도 7a 및 7b는 상기 중간 커버(400)를 포함하는 측정장치를 도시한 도면이다.

[76] 하부용기(100)는 일측면에 관통홀(403)을 포함하고, 상기 관통홀(403)을 통해 중간 커버(400)가 탈착 가능하게 삽입될 수 있다.

[77] 도 7a 및 7b에서 중간 커버(400)는 조절부(401), 가림부(402) 및 관통홀(403)을 포함한다. 중간 커버(400)는 하부용기(100)의 단턱(101)을 통과하여 기체발생부 내부로 삽입될 수 있으며,, 조절부(401)를 통해 하부용기(100)의 기체발생부(102)의 개폐를 외부에서 조절할 수 있다.

[78] 상기 도 5a에 도시된 바와 같이 중간 커버(400)는 판상일 수 있으며, 도 5b에 도시된 바와 같이, 카메라 조리개와 같은 형상일 수 있다.

[79] 본 발명에서 도 8은 본 발명에 따른 기체의 항균력 측정장치의 사진을 나타낸 것으로, 측정장치는 하부용기가 복수의 미생물 배지부를 가지는 경우를 나타낸다.

[80] 또한, 본 발명에서 도 9 및 도 10은 본 발명의 일례에 따른 상부용기 및 하부용기의 사진 및 도시한 도면으며, 상기 상부용기 및 하부용기는 바이알(vial) 형태로 제작할 수 있다. 도 9(a) 및 도 10(a)는 상부용기 및 하부용기의 개별적 사진 및 도시한 도면이고, 도 9(b) 및 도 10(b)는 상부용기 및 하부용기가 결합된 모습을 나타내며, 도 9(c) 및 도 10(c)는 상부용기 및 하부용기를 결합하고 실링하여 밀봉한 모습을 나타낸다. 이때, 실링은 은색의 septa를 사용할 수 있다.

[81] 본 발명에서는 기체의 항균력 측정장치를 바이알 형태로 제작하여 휴대가 용이하며, 하나 이상의 바이알을 별도의 지지체에 고정시켜 최소저해농도 실험 등의 다양한 실험을 수행할 수 있다.

[82]

[83] 또한, 본 발명은 전술한 기체의 항균력 측정장치를 사용하여 기체의 항균력을 측정하는 방법에 관한 것이다.

[84] 상기 기체의 항균력 측정방법은 기체의 항균력 측정장치의 기체발생부에 항균물질을 수용하는 단계;

[85] 상부용기에 고영양배지, pH 지시약 및 미생물을 포함하는 미생물 배지를 흡착시키는 단계;

[86] 하부용기 및 상부용기를 고정 및 밀봉 후 배양하는 단계; 및

[87] 미생물 배지의 색을 확인하는 단계를 포함할 수 있다.

[88] 본 발명에서 하부용기는 복수의 기체발생부가 형성되며, 각 기체발생부에는 항균물질의 농도를 다르게 주입할 수 있다.

[89] 기체의 항균력은 기체의 최소저해농도(minimal inhibitory concentration, MIC) 또는 최소치사농도(minimal lethal concentration, MLC)를 측정함으로써, 판단할 수 있다.

[90] "최소저해농도 (minimal inhibitory concentration, MIC)"란, 특정 미생물의 생장을 억제할 수 있는 최소한의 농도를 의미하는 것으로서, 다른 용어로

최소억제농도라고도 한다. 상기 최소저해농도는 미생물 배지가 변색하는 시점의 항균물질의 최저 농도를 확인함으로써, 알 수 있다.

[91] 본 발명에서 도 2a는 일 구체예에 따른 최소저해농도를 측정하는 방법을 도시한 도면이다.

[92] 상기 도 2a에 나타난 바와 같이, 복수개의 기체발생부에 다양한 농도의 항균물질을 첨가한 후, 상기 항균물질의 기체를 미생물 배지와 접촉시킴으로써, 배지의 색변화를 통해 미생물의 생육이 억제되는 항균물질의 최저 농도를 확인할 수 있다.

[93] 또한, "최소치사농도(minimal lethal concentration, MLC)"란, 특정 미생물을 죽일 수 있는 최소한의 농도를 의미하는 것이다. 상기 최소치사농도는 색이 변하지 않은 미생물 배지의 표면을 수거하고, 영양배지에 획선도말하고 배양하였을 때, 미생물이 자라지 않은 배지의 항균물질의 농도를 확인함으로써, 알 수 있다.

[94] 본 발명에서 도 2b는 일 구체예에 따른 최소치사농도를 측정하는 방법을 도시한 도면이다.

[95] 상기 도 2b에 나타난 바와 같이, 색이 변하지 않은 배지의 표면을 수거하고 영양배지에 획선도말함으로써, 최소치사농도를 측정할 수 있다.

[96] 본 발명에 따른 기체의 항균력 측정방법은 pH 지시약을 포함하는 미생물 배지의 색변화를 통해, 객관적으로 미생물의 생육을 확인할 수 있다는 특징이 있다. 이는 미생물이 도포된 표면에서 저해환의 크기 변화 또는 미생물 콜로니(집락) 크기의 변화를 통해 미생물의 생육을 주관적으로 판단해야만 하는 종래 기체의 항균력 측정방법과 차별화된다. 또한, 다수의 하부용기 및 상부용기가 구비되어 있어, 다양한 농도의 항균물질의 항균력을 동시에 측정할 수 있다는 특징이 있다. 따라서, 본 발명에 따른 기체의 항균력 측정방법은 표준화된 기체의 항균력 측정방법으로 이용할 수 있다.

[97]

발명의 실시를 위한 형태

[98] 본 발명의 이점 및 특징, 그리고 그것들을 달성하는 방법은 상세하게 후술되어 있는 실시예들을 참조하면 명확해질 것이다. 그러나 본 발명은 이하에서 개시되는 실시예들에 한정되는 것이 아니라 서로 다른 다양한 형태로 구현될 것이며, 단지 본 실시예들은 본 발명의 개시가 완전하도록 하고, 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 발명의 범주를 완전하게 알려주기 위해 제공되는 것이며, 본 발명은 청구항의 범주에 의해 정의될 뿐이다.

[99]

[100] [제조예 1]

[101] 측정 장치에 미생물 배지 적용

[102] 1% 글루코스가 첨가된 고영양배지에 pH 지시약인 브로모크레솔

퍼플(bromocresol purple)을 0.025% 첨가하였다. 액상의 상기 배지를 상부 용기에 350 ul을 넣고 굳힌 후, 미생물 현탁액(10^7 cfu/ml) 10 ul를 분주하여, 미생물이 배지에 흡착되도록 상온에서 30분간 유지하였다.

[103] 미생물이 이 배지에서 증식할 경우, 첨가된 1% 글루코스는 발효하여 젖산(lactic acid)을 생성하게 된다. 젖산이 생성되면 배지에 첨가된 pH 지시약인 브로모크레솔 퍼플과 반응하여 노란색을 띄게 된다. 반면 미생물이 생육하지 않을 경우, 본래 브로모크레솔 퍼플의 색인 보라색을 띄게 된다. 즉, 미생물의 생육여부는 배지의 색을 확인함으로써 판단할 수 있다.

[104]

[105] [실시예 1]

[106] 시나몬 정유(cinnamon bark essential oil)의 *E. coli* O157:H7에 대한 최소저해농도(minimal inhibitory concentration, MIC) 측정

[107] 미생물은 장출혈성 대장균인 *Escherichia coli* O157:H7을 사용하였고, 항균물질의 기체 발생을 위하여 다양한 정유를 사용하였다. 정유는 시나몬을 사용하였다.

[108] A는 음성 대조군이며, *Escherichia coli* O157:H7 및 정유를 첨가하지 않았다. B는 양성 대조군이며, *Escherichia coli* O157:H7는 첨가하였으나, 정유를 첨가하지 않았다. C, D, E, F 및 G는 *Escherichia coli* O157:H7는 첨가하였고, 정유는 각각 0.0098 ul/ml, 0.0195 ul/ml, 0.0391 ul/ml, 0.0781 ul/ml 및 0.1563 ul/ml를 첨가하였다.

[109] 본 발명의 실시예에서는 도 8과 같이 제조된 측정장치를 사용하였다.

[110] 구체적으로, 상부 용기와 하부 용기를 고정부를 통해 고정시킨 후, 30°C에서 48시간 동안 배양하였다. 배양이 끝난 후, 상부 용기의 배지의 색을 확인하여 최소저해농도를 판단하였다.

[111] 도 11은 상기의 방법에 따라 시나몬 정유의 최소저해농도를 측정한 결과를 나타낸 사진이다.

[112] 도 11에 도시된 바와 같이, E, F, G의 색이 보라색이므로 미생물이 증식하지 않았으며, 그 중 가장 시나몬의 농도가 적은 E가 최소저해농도를 나타냄을 알 수 있다. 그러므로 시나몬의 *E. coli* O157:H7에 대한 최소저해농도는 0.0391 ul/ml임을 확인할 수 있다.

[113]

[114] [실시예 2]

[115] 시나몬 정유(cinnamon bark essential oil)의 *E. coli* O157:H7에 대한 최소치사농도(minimal lethal concentration, MLC) 측정방법

[116] 상기 실시예 1에서 미생물 배지의 색이 보라색으로서, *E. coli* O157:H7이 자라지 않은 E, F, G의 배지의 표면샘플을 루프(loop)를 이용하여 영양배지(nutrient agar)에 획선도말(streaking)하고, 30°C에서 24시간 배양하였다. 배양 후, 획선도말된 영양배지에 미생물이 자라지 않은 샘플이 수거된 G에

적용된 정유의 양을 최소치사농도로 판단하였다.

[117] 그 결과, 시나몬의 *E. coli* O157:H7에 대한 최소치사농도는 0.1563 ul/ml임을 확인할 수 있었다.

[118]

[119] [실시예 3]

[120] 다양한 천연항균기체의 *E. coli* O157:H7에 대한 최소저해농도(minimal inhibitory concentration, MIC) 및 최소치사농도(minimal lethal concentration, MLC) 측정결과

[121] 상기 실시예 1 및 실시예 2와 동일한 방법으로, 하기 표 1의 정유의 최소저해농도와 최소치사농도를 측정하였다.

[122] 표 1

[Table 1]

Essential oils	MIC (ul/ml)	MLC (ul/ml)
레몬	20.00	>20.00
갈릭	10.00	10.00
레몬글라스	2.50	2.50
사이프러스	2.50	2.50
파인	2.50	2.50
블랙페퍼	1.25	2.50
세이지	1.25	1.25
시스터스	1.25	1.25
시트로넬라	1.25	1.25
클라리세이지	1.25	2.50
타임 spanish	1.25	1.25
티트리	1.25	1.25
스피아민트	0.6250	1.25
클로브	0.6250	1.25
타임 linalool	0.6250	0.6250
오레가노	0.3125	0.3125
페퍼민트	0.3125	0.6250
타임 티몰	0.0781	0.0781
시나몬	0.0391	0.1563

[123]

[124] 부호의 설명

[125] 100 하부용기, 101 단턱, 102 기체발생부, 100^a 외부용기, 100^b 내부용기

[126] 200 상부용기, 201 체결돌기, 202 배지부

[127] 100' 홈, 100" 돌기

[128] 400 중간 커버, 401 조절부, 402 가림부, 403 관통홀

[129] 500 나사홀, 501 조임나사, 502 밀봉부재 수용홈, 503 밀봉부재

[130]

산업상 이용가능성

[131] 본 발명에 따른 기체의 항균력 측정창치를 사용하면, 기체의 농도를 일정하게 유지할 수 있고, pH 지시약을 포함하는 미생물 배지의 색변화를 통해, 객관적으로 미생물의 생육을 확인할 수 있다.

[132] 따라서, 본 발명에 따른 측정장치는 표준화된 기체의 항균력 측정장치로서 이용될 수 있다.

[133]

청구범위

[청구항 1] 항균물질을 수용하는 기체발생부를 포함하는 하부용기; 및
상기 하부용기의 상부에 위치하고, 상기 기체발생부에서 발생하는 기체상의 항균물질과 접촉하는 미생물 배지를 수용하는 미생물 배지부를 포함하는 상부용기;를 포함하는 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 2] 제 1항에 있어서,
하부용기는 하나 이상의 기체발생부를 포함하는 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 3] 제 1항에 있어서,
하부용기는 일측면에 형성되는 돌기 및 상기 일측면과 대응되는 타측면에 형성되는 홈을 포함하는 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 4] 제 1항에 있어서,
하부용기는 하나 이상의 기체발생부를 포함하는 상기 하부용기가 삽입되는 외부용기를 추가로 포함하는 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 5] 제 4항에 있어서,
외부용기는 일측면에 형성되는 돌기 및 상기 일측면과 대응되는 타측면에 형성되는 홈을 포함하는 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 6] 제 4항에 있어서,
외부용기는 복수 개로 구획된 수용공간을 가지며, 상기 외부용기 각각의 수용공간에 하나 이상의 기체발생부를 포함하는 하부용기가 삽입되는 항균력 측정장치.

[청구항 7] 제 1항에 있어서,
하부용기의 내측면에는 단턱이 형성되고,
상기 단턱은 상부용기에 형성된 체결돌기와 체결되는 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 8] 제 1항에 있어서,
상부용기와 접촉하는 하부용기의 표면에 형성되며, 밀봉부재가 삽입되는 밀봉부재 수용홈을 포함하는 밀봉부를 추가로 포함하는 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 9] 제 1항에 있어서,
상부용기는 하나 이상의 미생물 배지부를 포함하는 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 10] 제 1항에 있어서,
상부용기는 일측면에 형성되는 돌기 및 상기 일측면에 대응되는 타측면에 형성되는 홈을 포함하는 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 11] 제 1항에 있어서,

기체의 항균력 측정장치는 기체발생부를 밀폐시키는 중간 커버를 추가로 포함하며,
상기 중간 커버는 하부용기의 일측면에 형성된 관통홀을 통해 탈착 가능하게 삽입되는 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 12] 제 1항에 있어서,
기체발생부에 수용되는 항균물질은 항균 기체 또는 휘발성 항균물질인 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 13] 제 12항에 있어서,
항균 기체는 아황산가스, 오존가스, 이산화탄소, 일산화질소 및 황화수소로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상인 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 14] 제 13항에 있어서,
휘발성 항균물질은 정유, 휘발성 유기물 또는 휘발성 무기물인 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 15] 제 14항에 있어서,
정유는 시나몬, 레몬, 갈릭, 레몬글라스, 사이프러스, 파인, 블랙페퍼, 세이지, 시스터스, 시트로넬라, 클라리 세이지, 타임 스페니쉬, 티트리, 스피아민트, 클로브, 타임 리나룰, 오레가노, 페퍼민트 및 타임 티몰로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나 이상이고,
휘발성 유기물은 초산, 아세트산, 젖산나트륨, 소르빈산, 벤조산, 트리클로산, 에탄올 또는 에틸아세테이트이며,
휘발성 무기물은 이산화염소 또는 과산화수소인 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 16] 제 1항에 있어서,
미생물 배지부에 수용되는 미생물 배지는 고영양배지, pH 지시약 및 미생물을 포함하는 발색배지인 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 17] 제 16항에 있어서,
고영양배지는 글루코스, L-아라비노스, 과당, D-자일로스, D-만노스, 갈락토스, D-트레할로오스, 셀로비오스, M-만니톨, 글리세린, 이노시톨, 솔비톨 및 L-람노스로 이루어진 영양물질로부터 선택되는 어느 하나 이상을 포함하는 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 18] 제 17항에 있어서,
영양물질은 고영양배지 100 중량부 대비 0.01 내지 3중량부로 포함하는 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 19] 제 16항에 있어서,
pH 지시약은 브로모크레졸 퍼플, 브로모크레졸 그린,

브로모크레졸 블루, 메틸레드, 브롬티몰블루, 페놀레드, 알리자린옐로우 R, 크레졸 레드 및 뉴트럴레드로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 20] 제 19항에 있어서,
pH 지시약은 고영양배지의 100 중량부 대비 0.005 내지 0.2 중량부로 포함하는 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 21] 제 16항에 있어서,
미생물은 세균, 곰팡이 및 효모로 이루어진 군으로부터 선택되는 어느 하나인 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 22] 제 21항에 있어서,
세균은 장출혈성 대장균(*Escherichia coli* O157:H7) 또는 리스테리아균(*Listeria monocytogenes*)인 식중독균이고, 곰팡이는 아스페르길루스 플라부스 (*Aspergillus flavus*)이며, 효모는 사카로미세스 세레비시아(*Saccharomyces cerevisiae*)인 기체의 항균력 측정장치.

[청구항 23] 제 21항에 있어서,
미생물의 농도는 10^5 내지 10^7 cfu/ml인 기체의 항균력 측정장치.

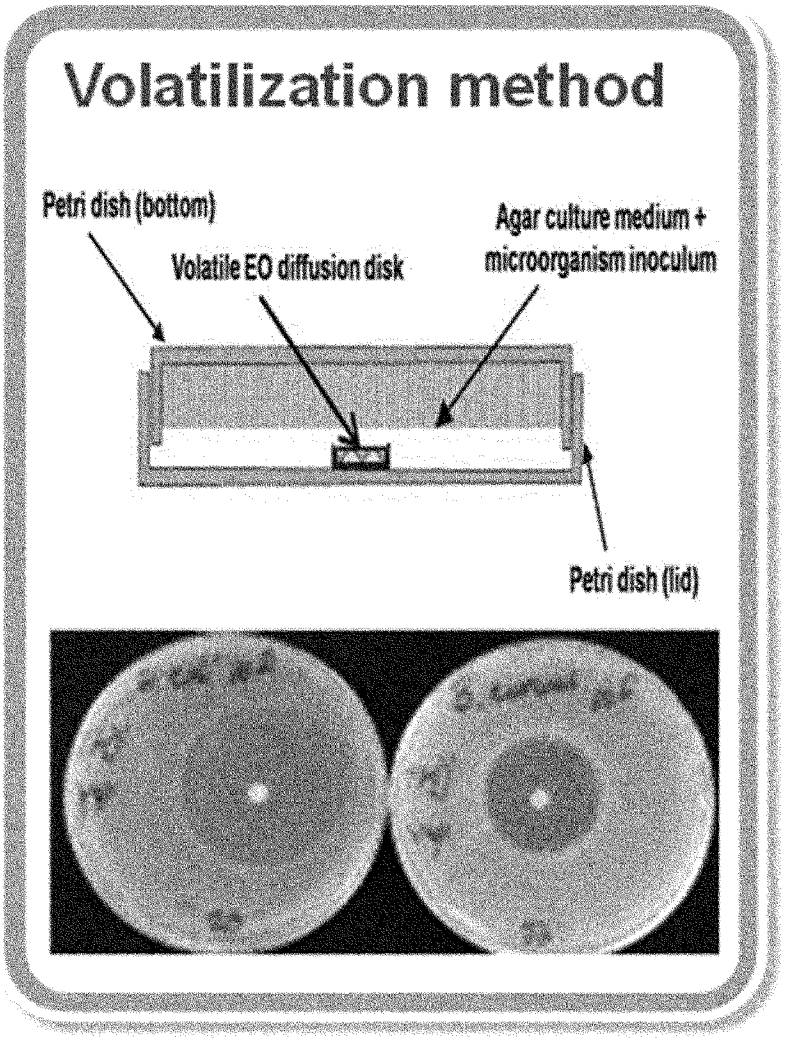
[청구항 24] 제1항에 따른 기체의 항균력 측정장치의 기체발생부에 항균물질을 수용하는 단계;
상부용기에 고영양배지, pH 지시약 및 미생물을 포함하는 미생물 배지를 흡착시키는 단계;
하부용기 및 상부용기를 고정 및 밀봉 후 배양하는 단계; 및
미생물 배지의 색을 확인하는 단계를 포함하는 기체의 항균력 측정방법.

[청구항 25] 제 24항에 있어서,
하부용기는 복수의 기체발생부를 포함하고, 각각의 기체발생부에는 상이한 농도의 항균물질을 수용하는 기체의 항균력 측정방법.

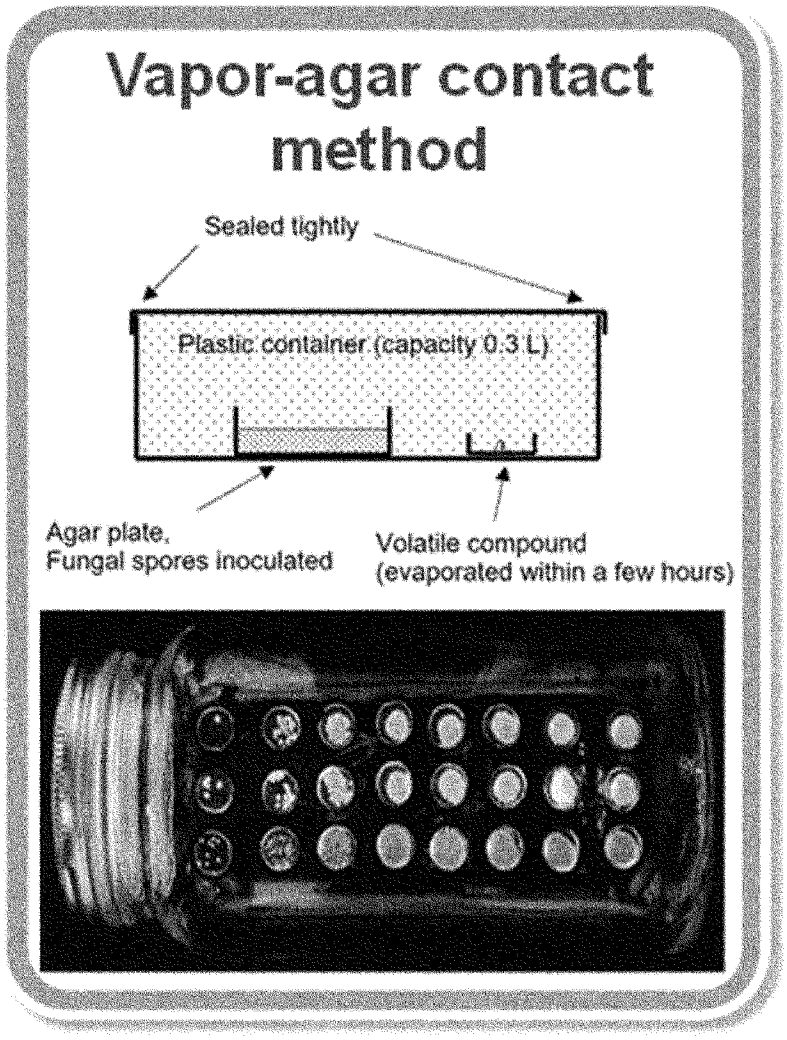
[청구항 26] 제 25항에 있어서,
색이 변하지 않은 미생물 배지의 항균물질의 농도를 확인하여 최소저해농도를 확인하는 기체의 항균력 측정방법.

[청구항 27] 제 26항에 있어서,
색이 변하지 않은 미생물 배지의 표면을 수거하고, 영양배지에 획선도말하고 배양하며, 미생물이 자라지 않은 배지의 항균물질의 농도를 확인하여 최소치사농도를 확인하는 기체의 항균력측정방법.

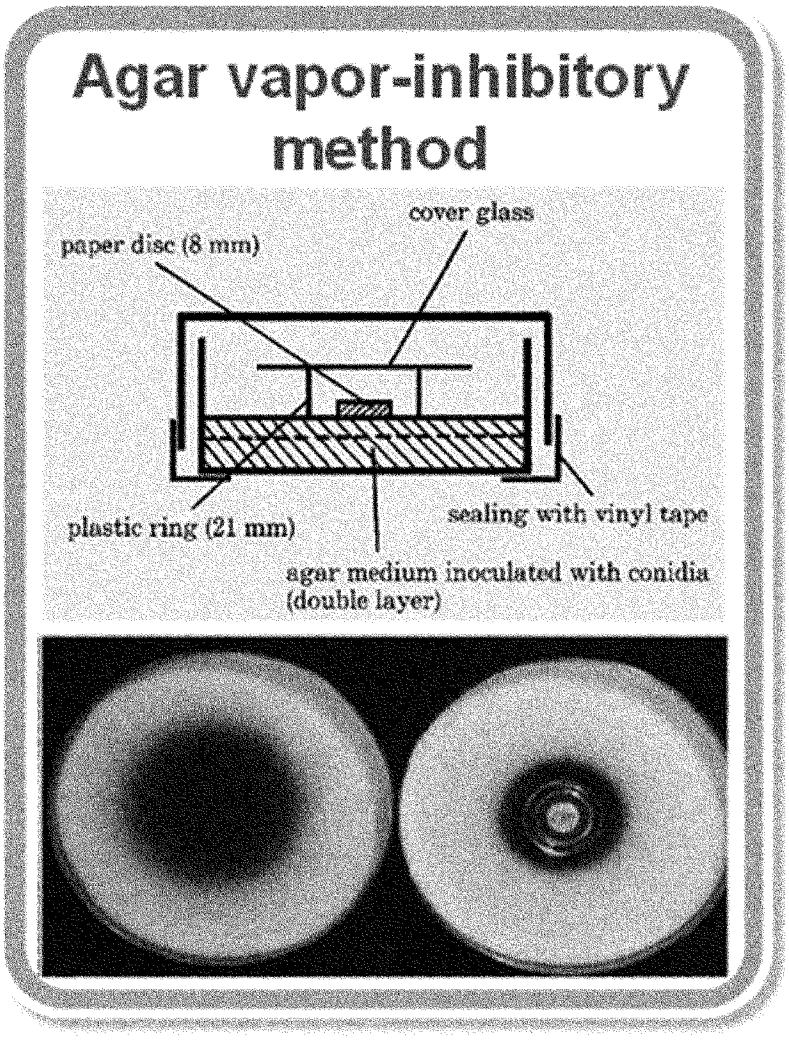
[Fig. 1a]


Volatilization method
Petri dish (bottom)
Volatile EO diffusion disk
Agar culture medium + microorganism inoculum
Petri dish (lid)

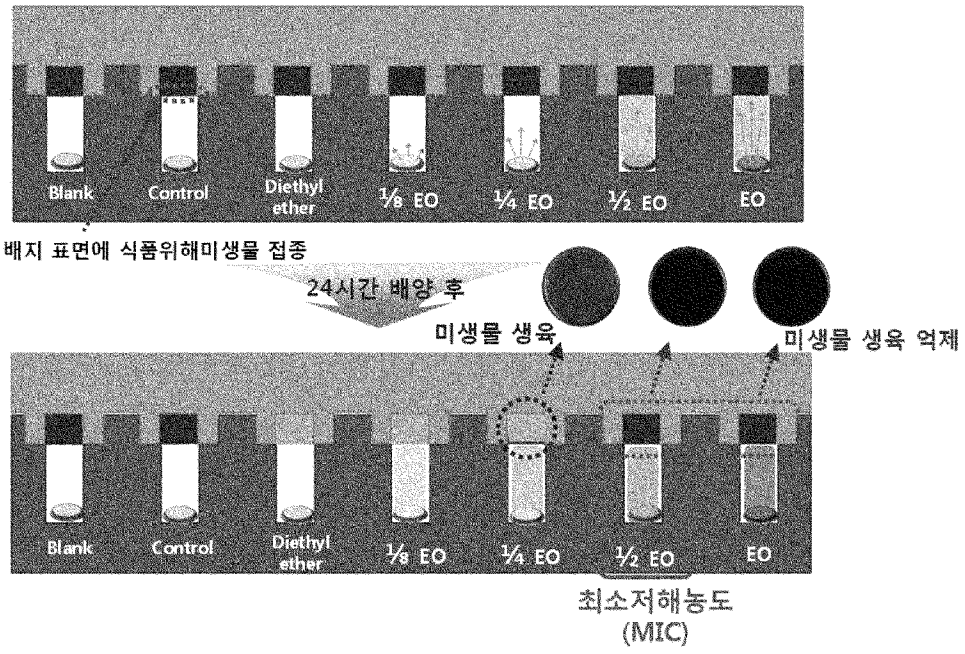
[Fig. 1b]


Vapor-agar contact method
Sealed tightly
Plastic container (capacity 0.3 L)
Agar plate,
Fungal spores inoculated
Volatile compound
(evaporated within a few hours)

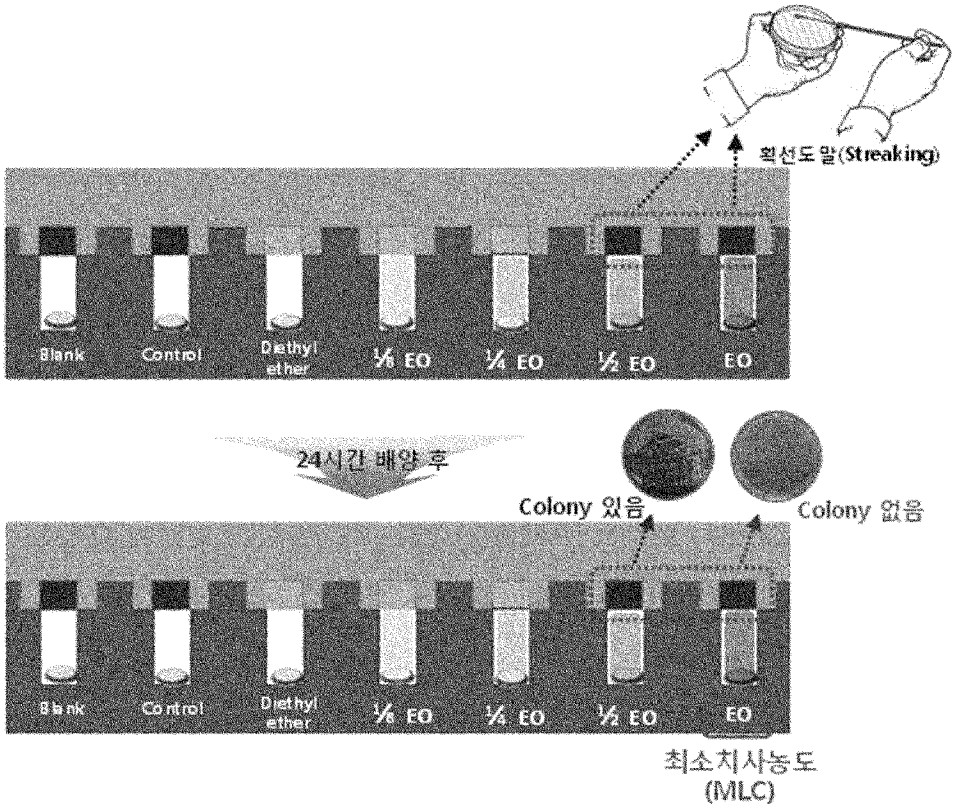
[Fig. 1c]


Agar vapor-inhibitory method
cover glass
paper disc (8 mm)
plastic ring (21 mm)
sealing with vinyl tape
agar medium inoculated with conidia (double layer)

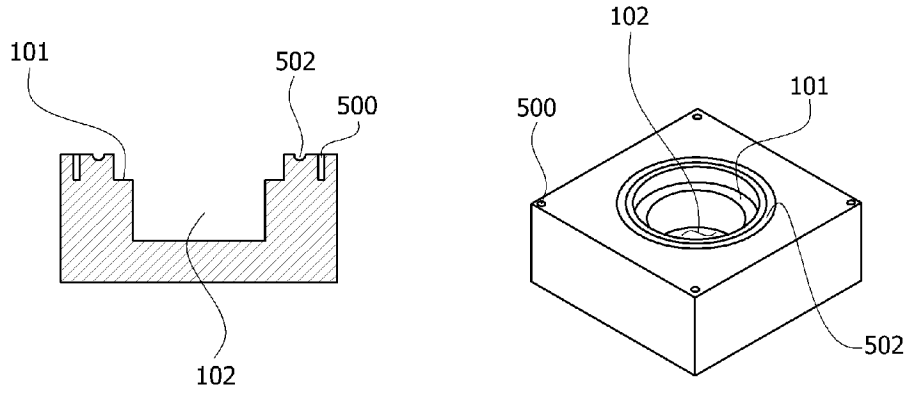
[Fig. 2a]


Blank
Control
Diethyl ether
⅛ EO
¼ EO
½ EO
EO
배지 표면에 식품위해미생물 접종
24시간 배양 후
미생물 생육
미생물 생육 억제
Blank
Control
Diethyl ether
⅛ EO
¼ EO
½ EO
EO
최소저해농도 (MIC)

[Fig. 2b]

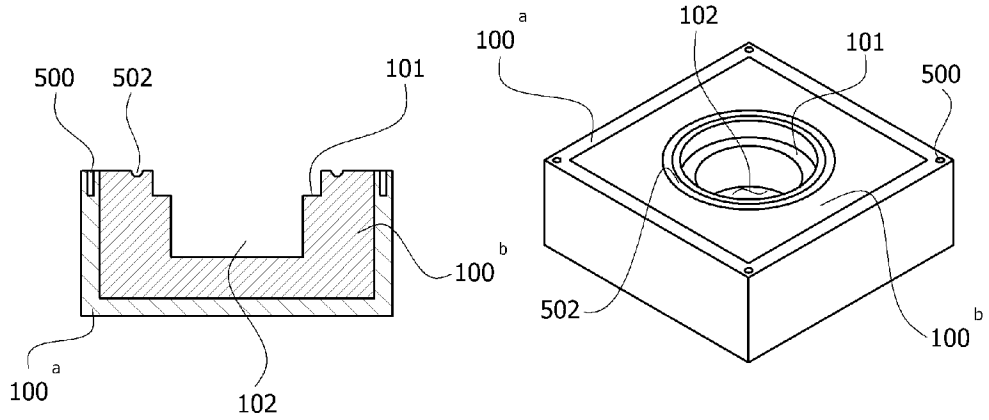


[Fig. 3a]



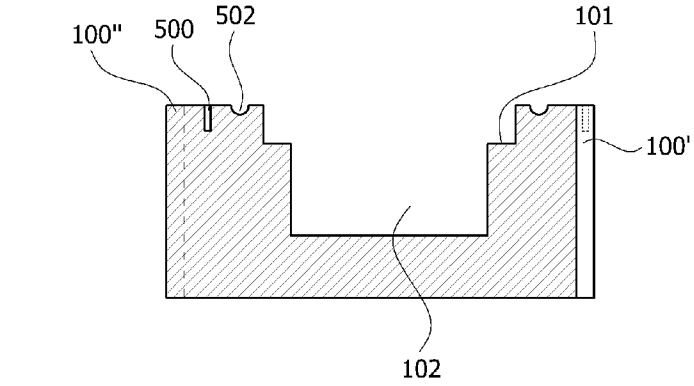
100

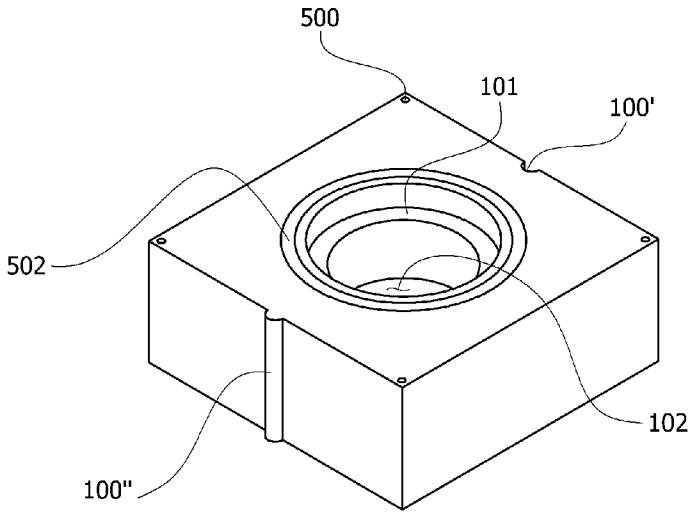
[Fig. 3b]



100

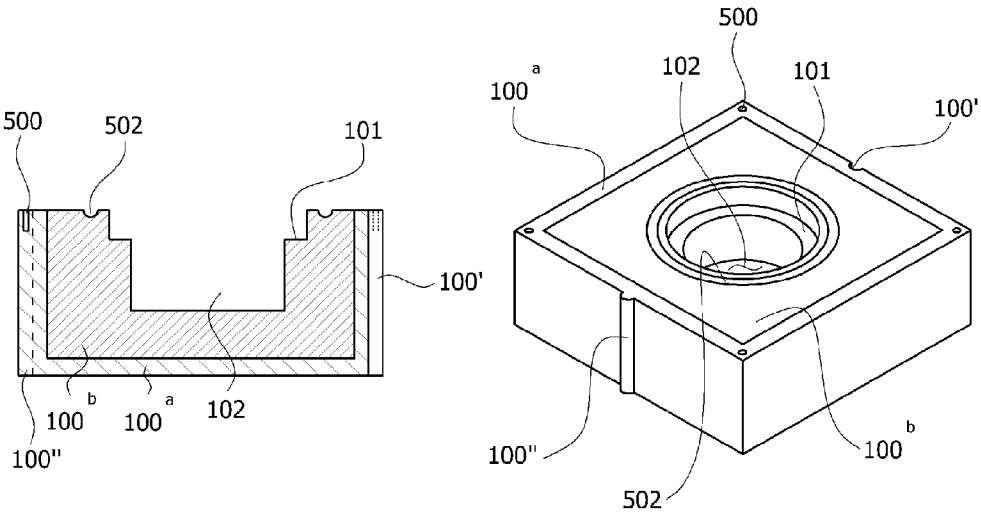
[Fig. 3c]





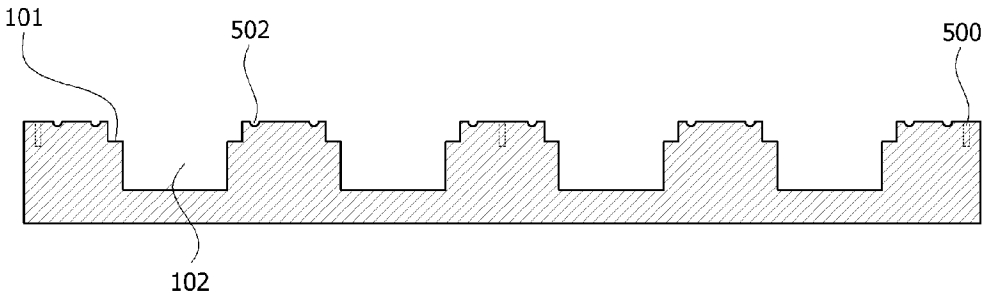
100

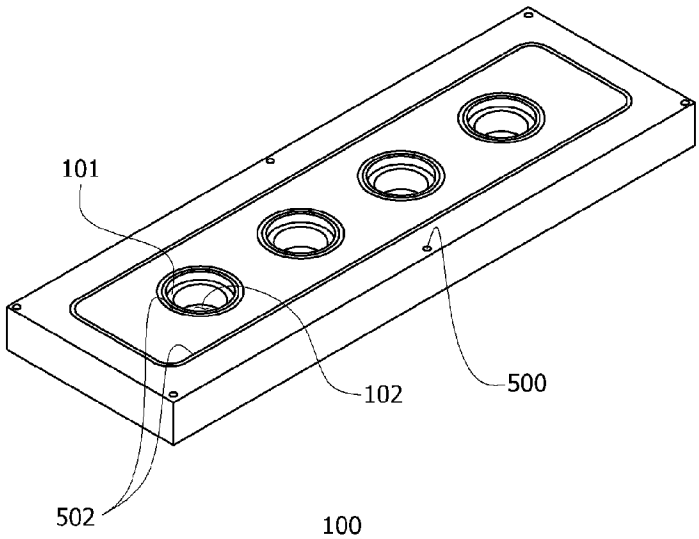
[Fig. 3d]



100

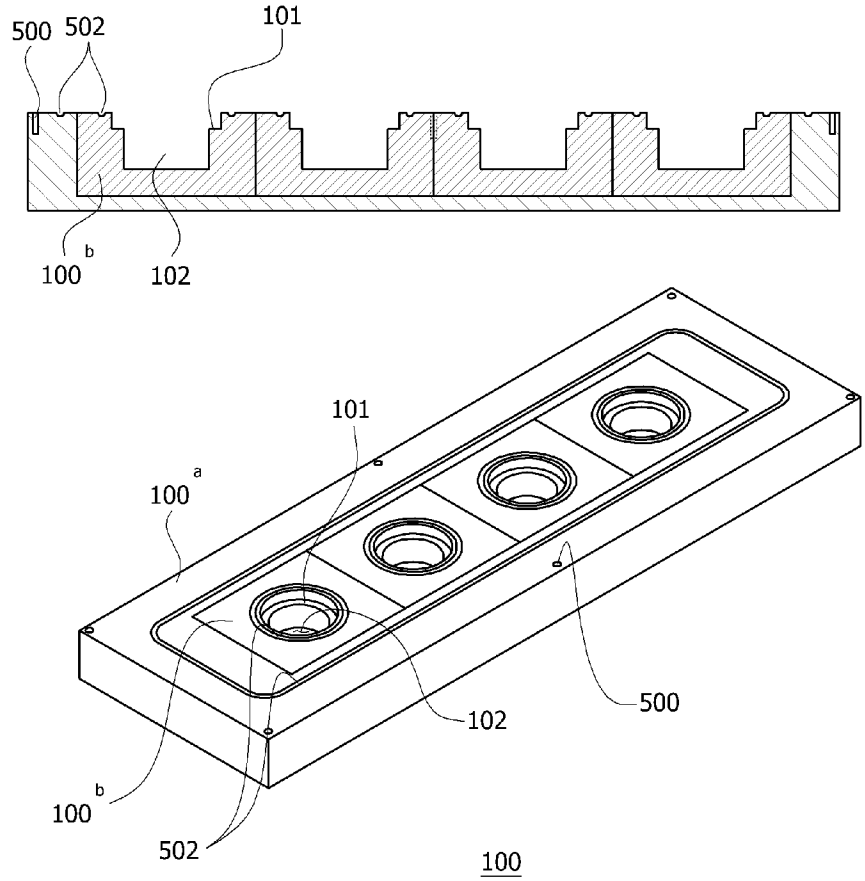
[Fig. 3e]



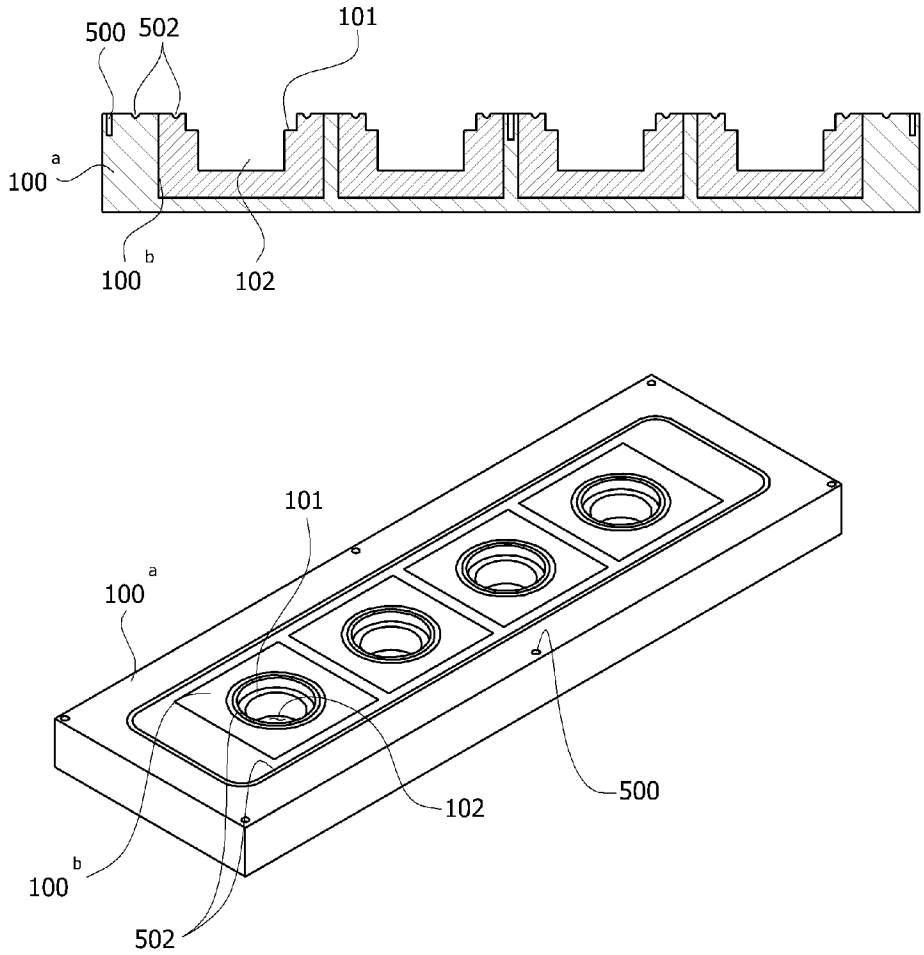


100

[Fig. 3f]

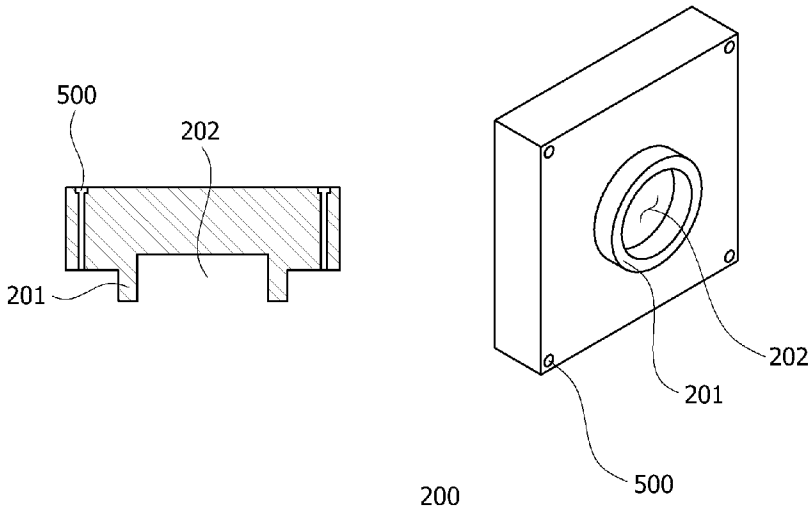


[Fig. 3g]



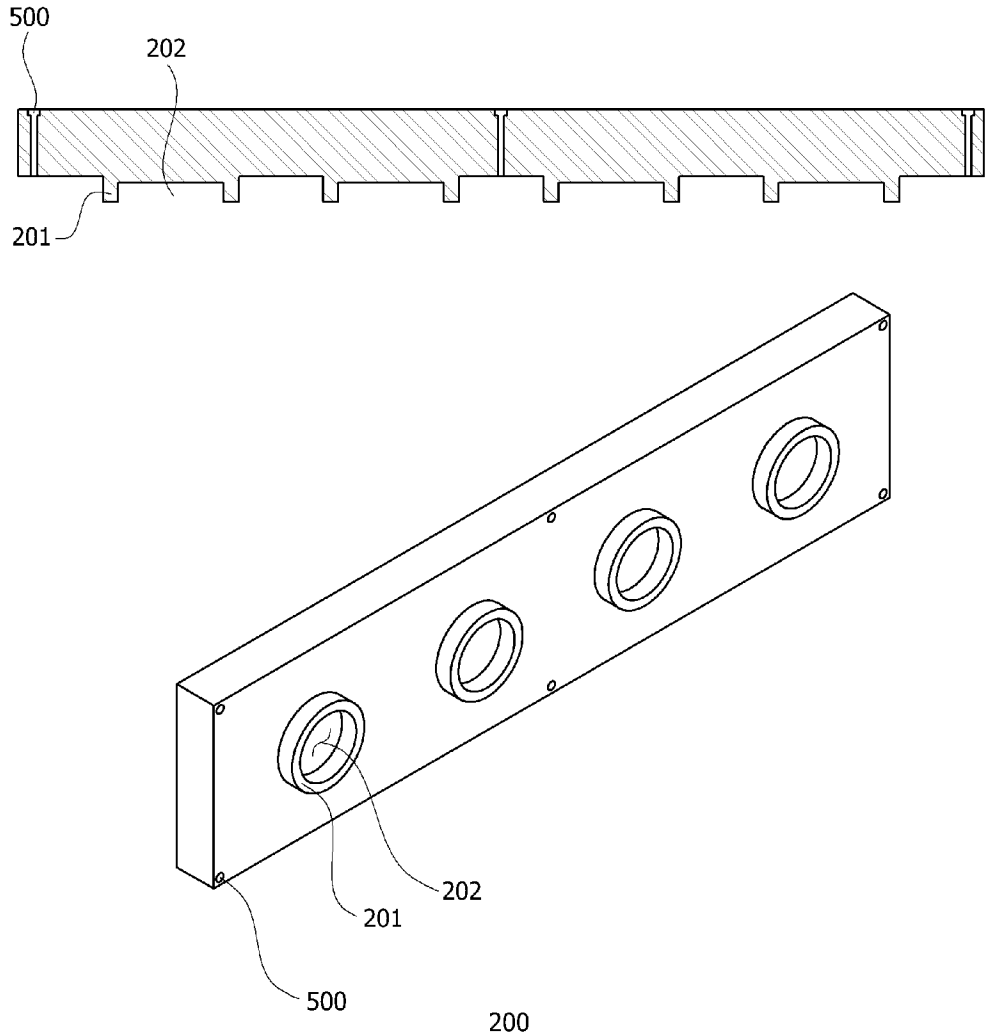
100

[Fig. 4a]

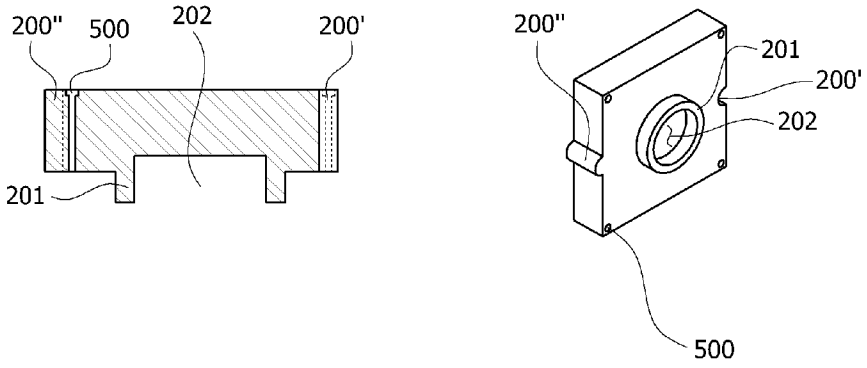


200

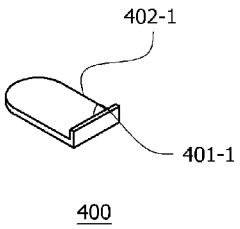
[Fig. 4b]



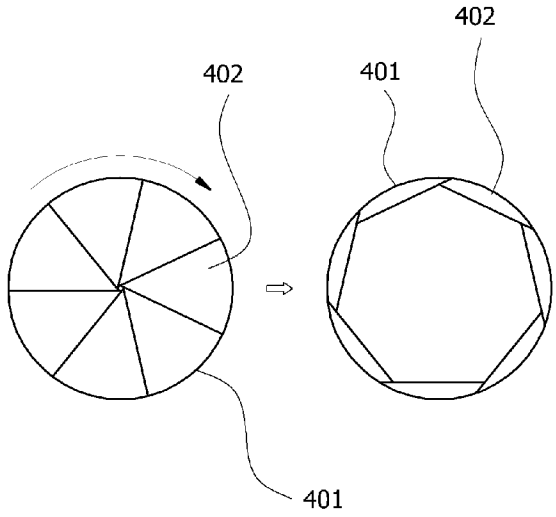
[Fig. 4c]



[Fig. 5a]

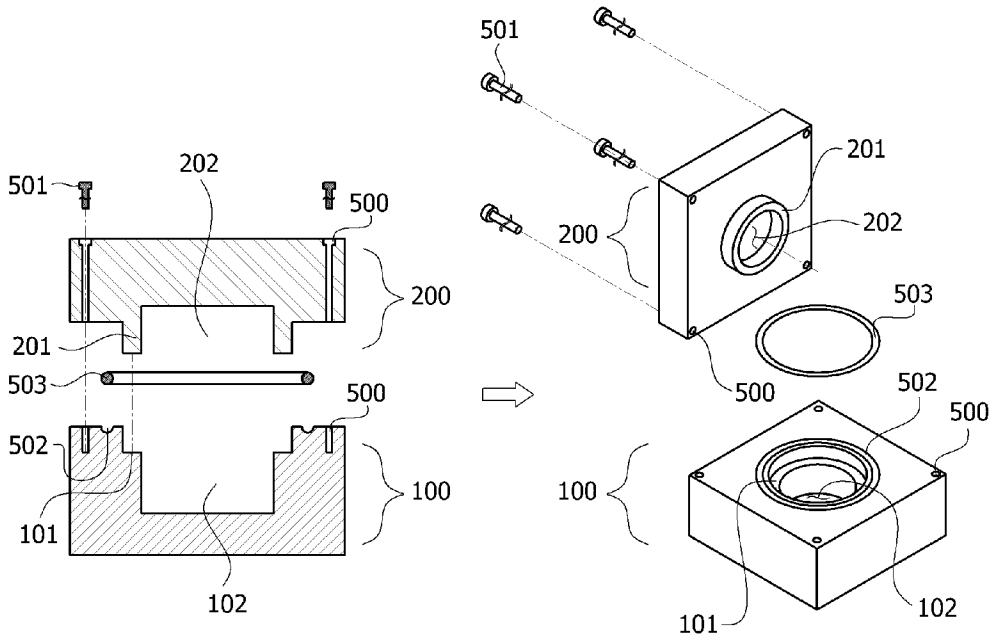


[Fig. 5b]

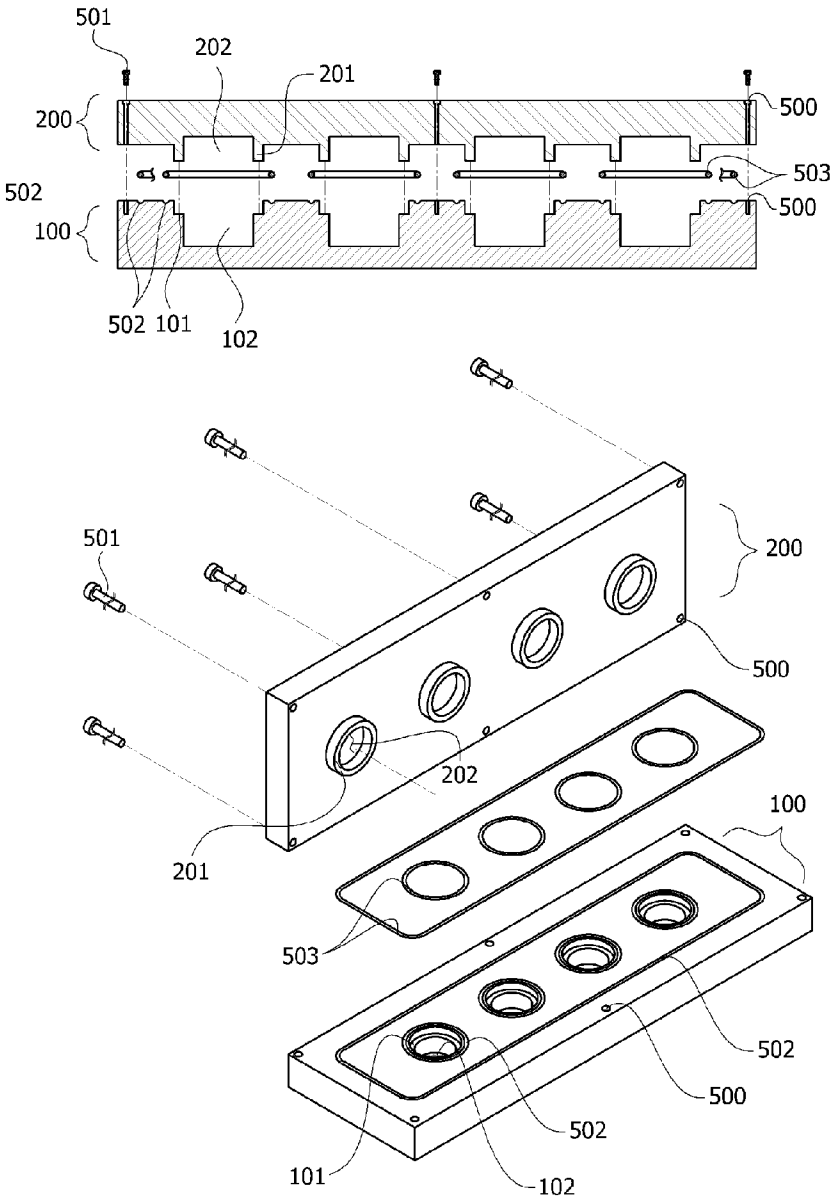


400

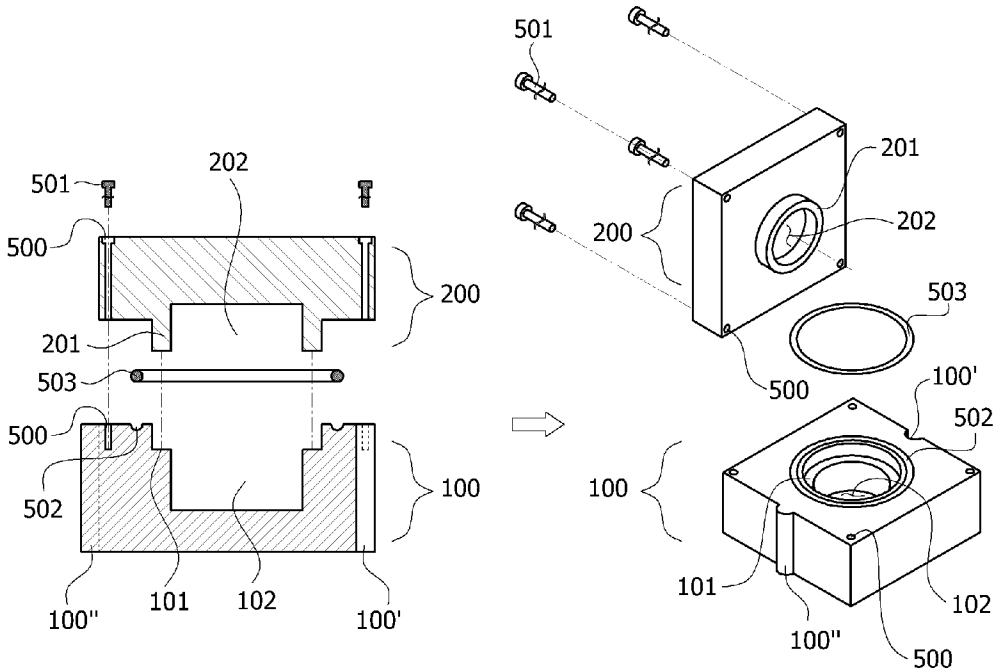
[Fig. 6a]



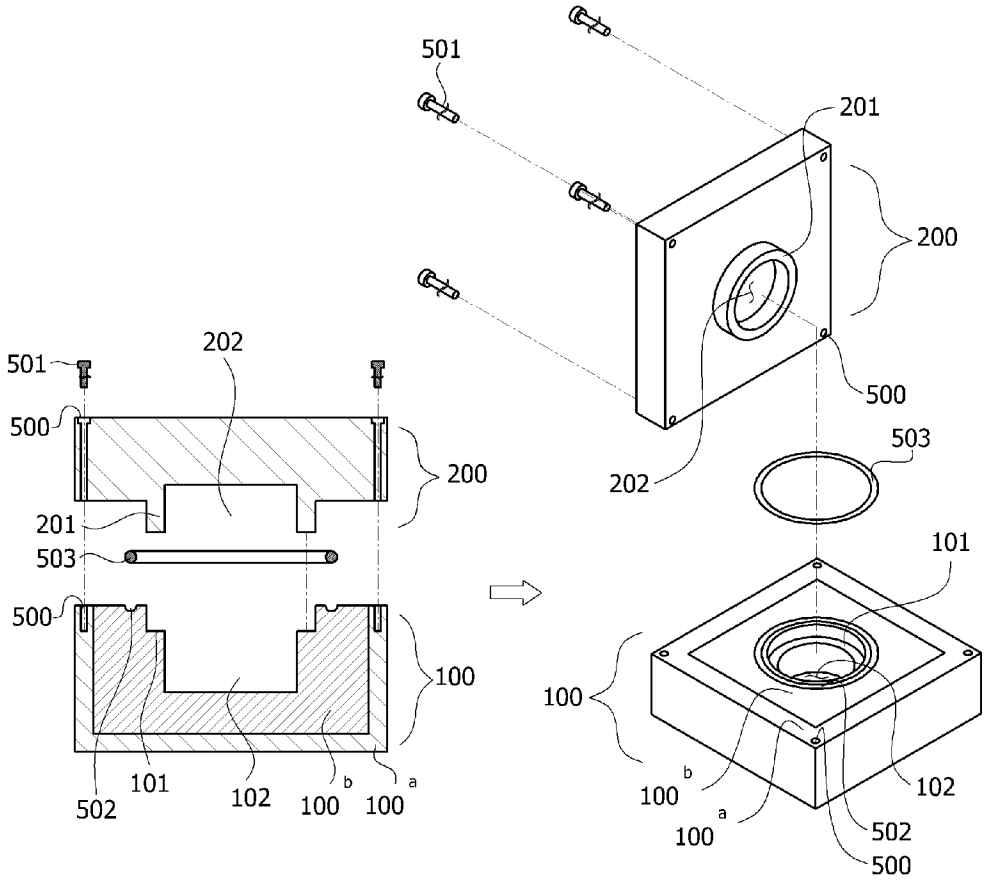
[Fig. 6b]


501
202
201
200
500
503
502
100
502
101
102
501
200
500
202
201
100
503
502
500
502
101
102

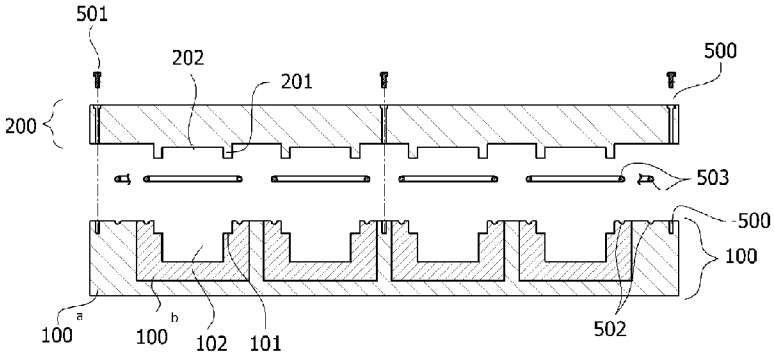
[Fig. 6c]

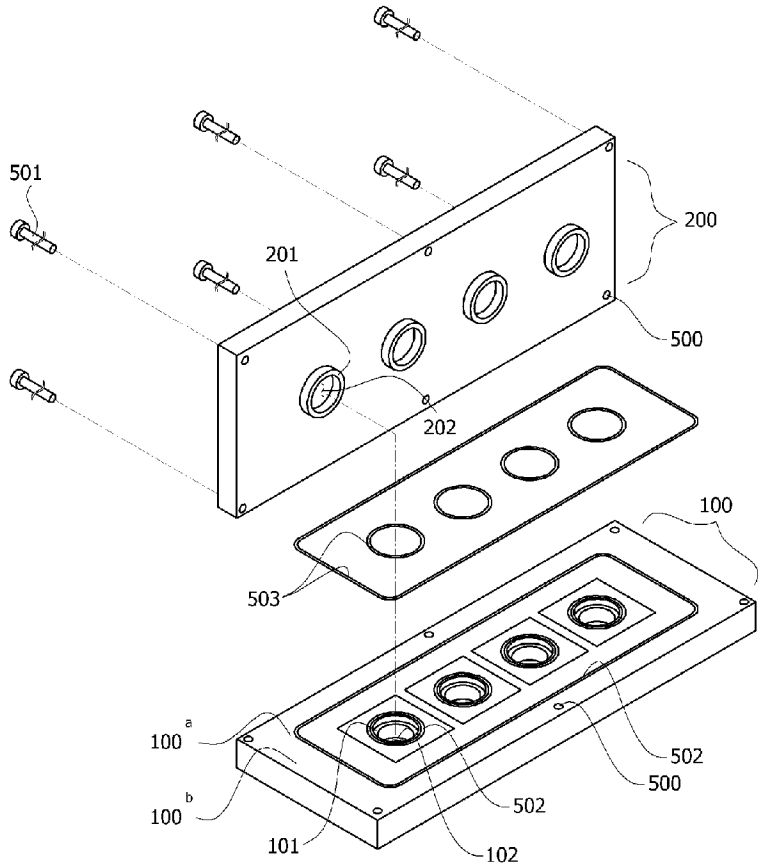

501
202
501
500
200
201
503
500
502
100
100"
101
102
100'
501
201
200
202
503
500
100'
502
100
101
102
100"
500

[Fig. 6d]

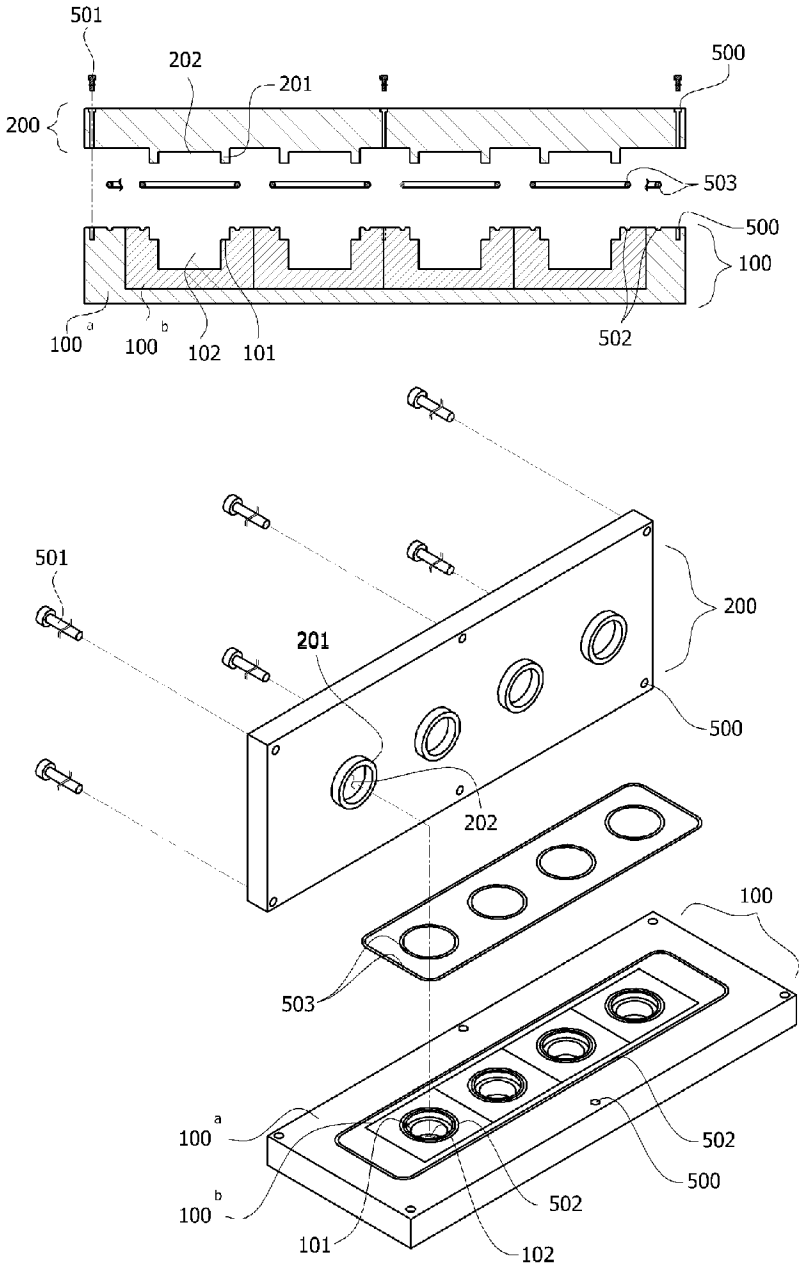

501
201
200
500
503
202
101
100
102
502
501
202
500
200
201
503
500
100
502
101
102
100
b
100
a
100
b
100
a
102
502
500

[Fig. 6e]

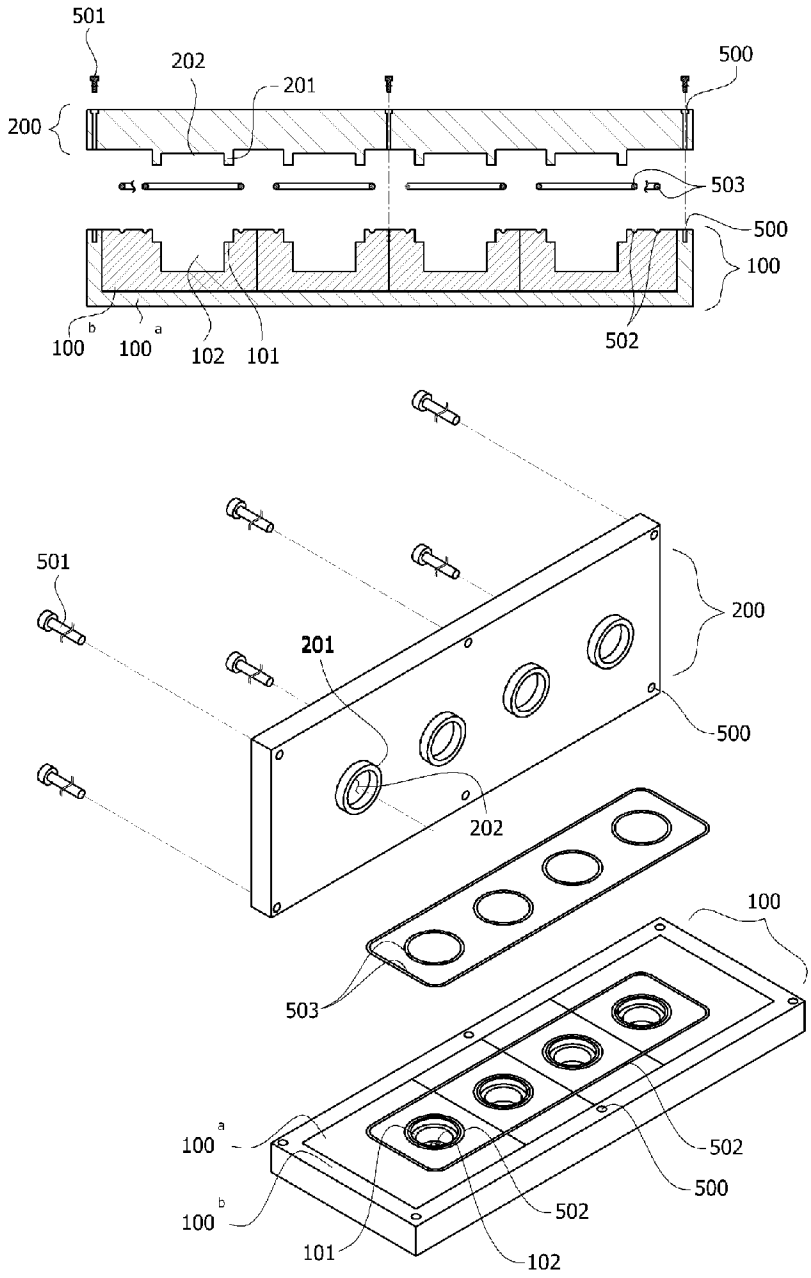

501
202
201
500
200
503
500
100
100a
100b
102
101
502


501
200
201
500
202
100
503
100a
100b
502
500
502
101
102

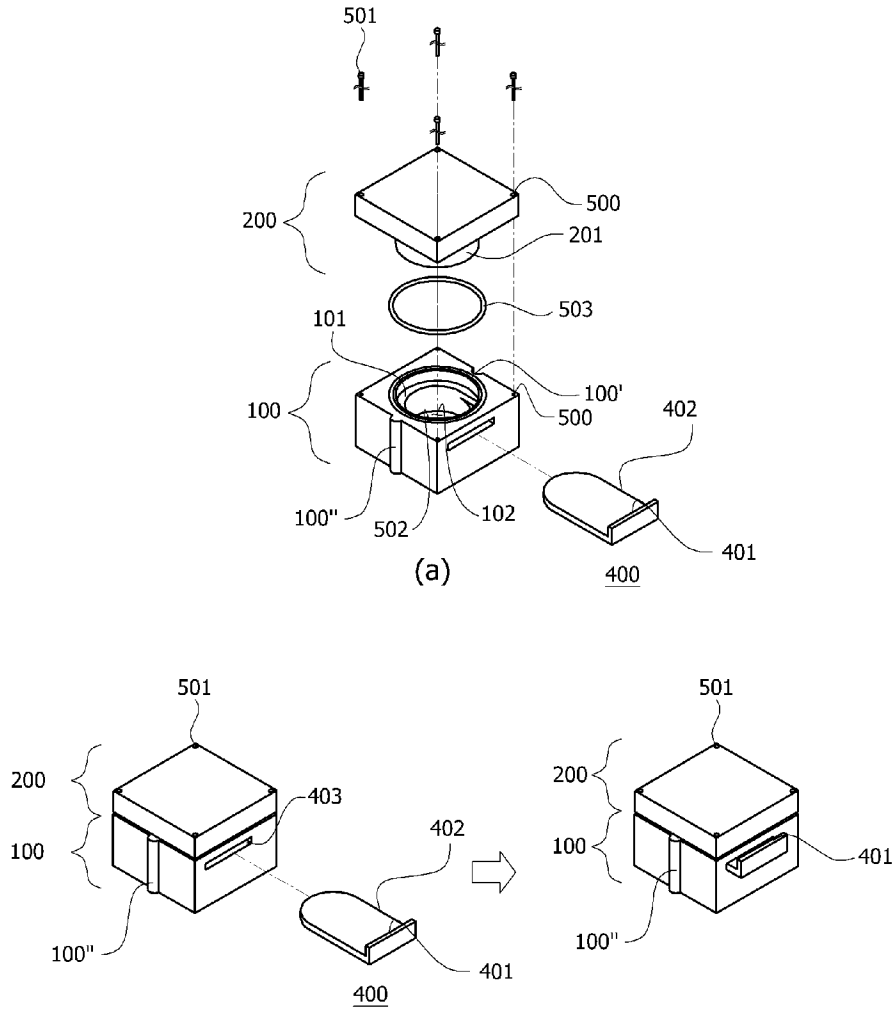
[Fig. 6f]


501
202
201
500
200
503
500
100
100a
100b
102
101
502
501
201
200
500
202
100
503
100a
100b
502
500
502
101
102

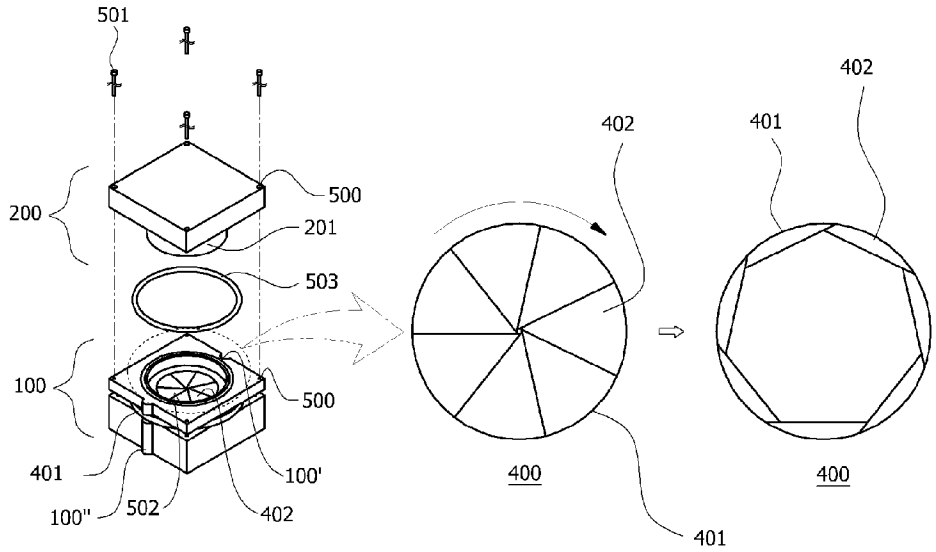
[Fig. 6g]


501
202
201
500
200
503
500
100
100b
100a
102
101
502
501
200
201
500
202
100
503
100a
100b
502
500
502
101
102

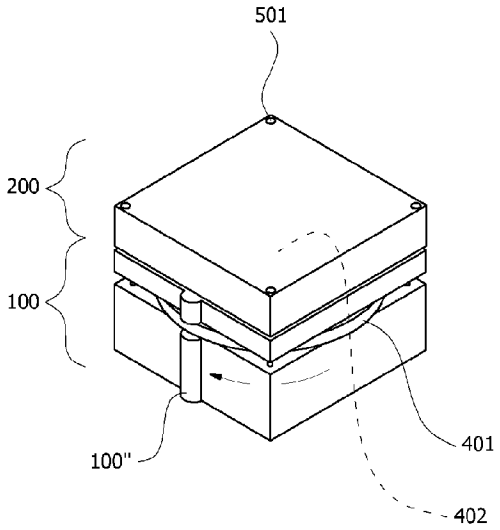
[Fig. 7a]


501
200
500
201
503
101
100
100'
500
402
100"
502
102
401
400
(a)
501
200
403
100
402
100"
401
400
501
200
100
401
100"
(b)

[Fig. 7b]


501
200
500
201
503
100
500
401
100'
100"
502
402
402
401
400
401
402
400
401

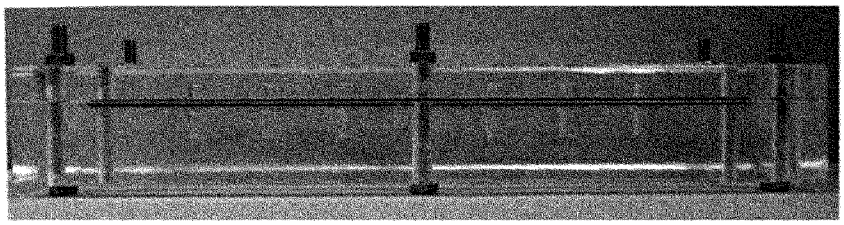
(a)


501
200
100
401
100"
402

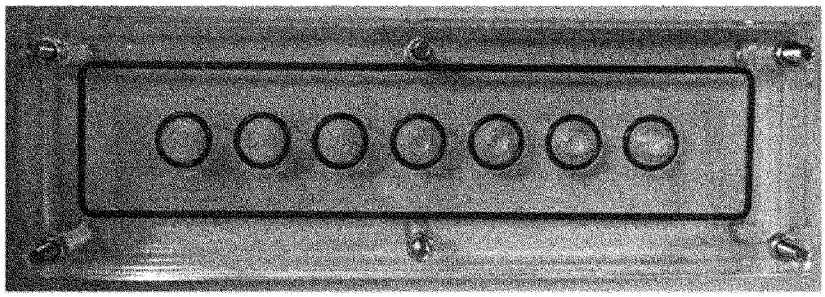
(b)

[Fig. 8]

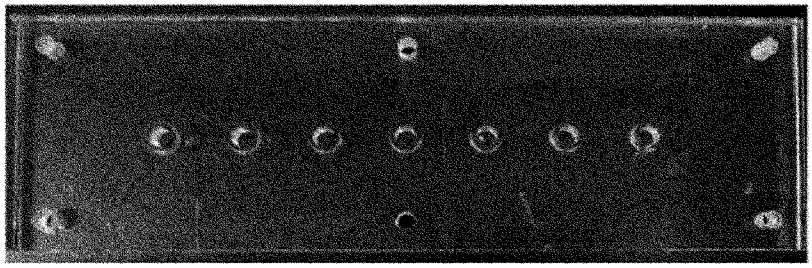
(a)



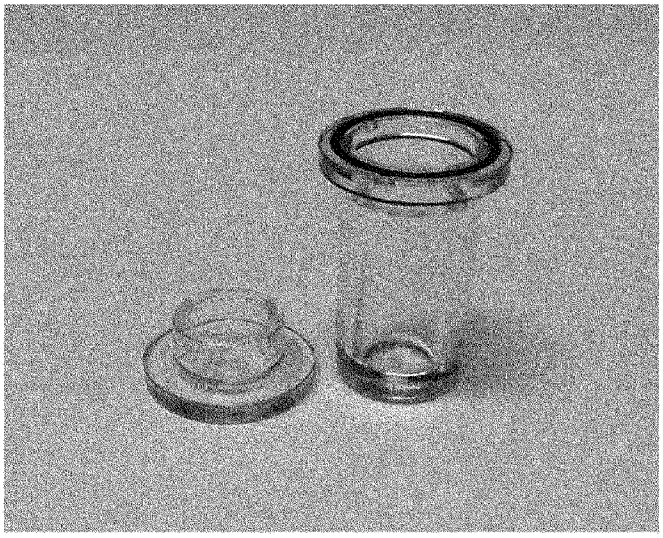
(b)



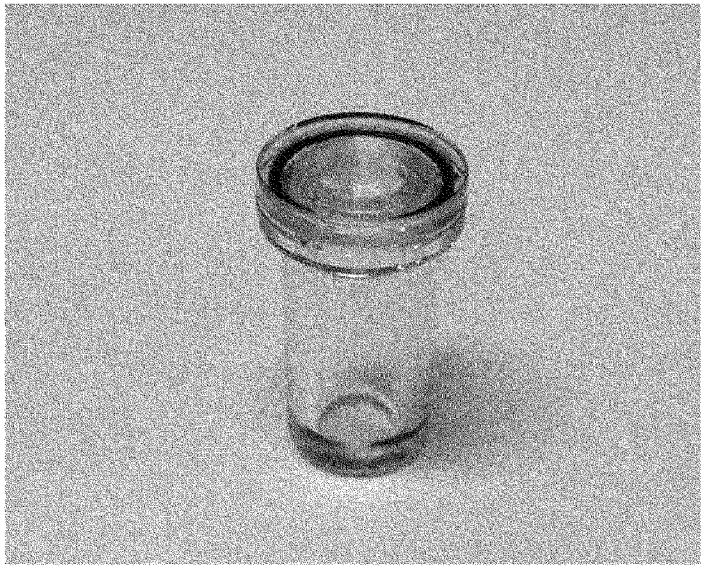
(c)



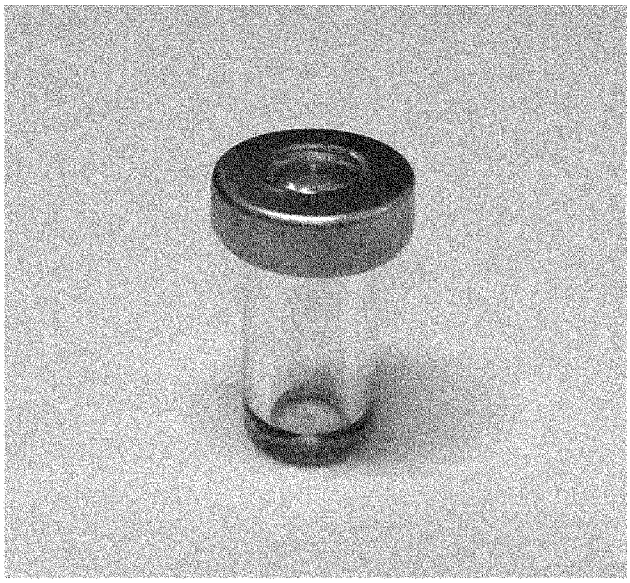
[Fig. 9a]



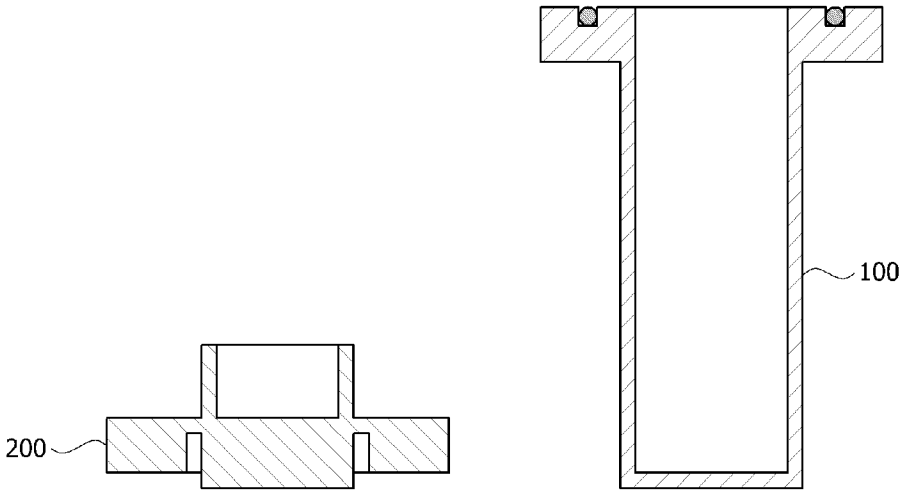
[Fig. 9b]



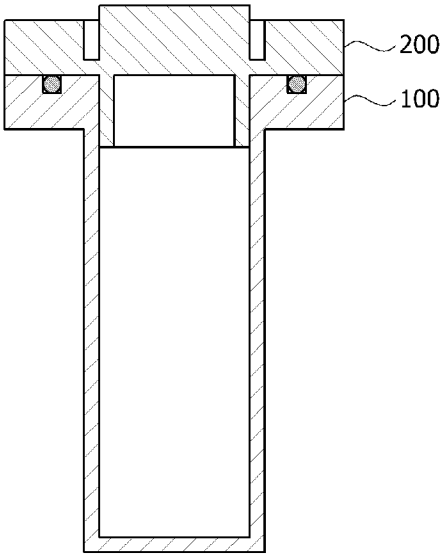
[Fig. 9c]



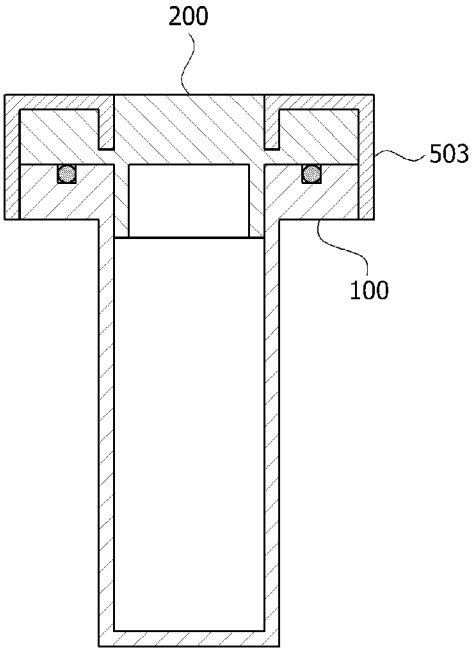
[Fig. 10a]



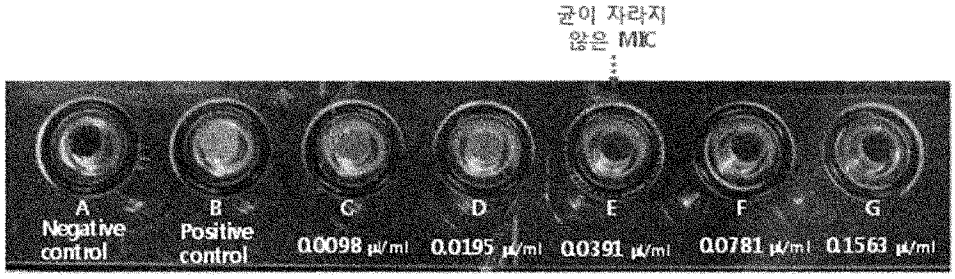
[Fig. 10b]



[Fig. 10c]



[Fig. 11]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/KR2015/001127

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61L 2/28(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61L 2/28; C12Q 1/04; A01N 59/04; C12Q 1/22; C12Q 1/06; A01N 1/00; C12M 1/34

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched
Korean Utility models and applications for Utility models: IPC as above
Japanese Utility models and applications for Utility models: IPC as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

eKOMPASS (KIPO internal) & Keywords: antibiotic, vapor, generation, lower part, container, upper part, contact, microorganism, agar, groove, essential oil, volatilization, nutrient, material

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2001-213701 A (EKIKA TANSAN KK.) 07 August 2001 See abstract; claim 1; paragraphs [0010], [0014], [0021]-[0030]; figure 3	1-3,7-24
Y		4-6,25-27
Y	JP 2562221 B2 (KRALOVIC, Raymond C.) 11 December 1996 See abstract; page 4; paragraph [0014]; figure 3, figure 5	4-6,25-27
A	KR 10-2004-0098043 A (SHARP KABUSHIKI KAISHA) 18 November 2004 See abstract; pages 4-6; figure 1	1-27
A	KR 10-2002-0033080 A (ETHICON INC.) 04 May 2002 See abstract; pages 3-5; figure 1	1-27

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
18 MARCH 2015 (18.03.2015)	**18 MARCH 2015 (18.03.2015)**

Name and mailing address of the ISA/**KR**
Korean Intellectual Property Office
Government Complex-Daejeon, 189 Seonsa-ro, Daejeon 302-701, Republic of Korea
Facsimile No. 82-42-472-7140

Authorized officer

Telephone No.

International application No.
PCT/KR2015/001127

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
JP 2001-213701 A	07/08/2001	NONE	
JP 2562221 B2	11/12/1996	CA 2010063 A1	27/09/1990
		EP 0390367 A1	03/10/1990
		EP 0390367 B1	22/12/1993
		JP 02-562221B	19/09/1996
		JP 2286073 A	26/11/1990
		US 04885253 A	05/12/1989
KR 10-2004-0098043 A	18/11/2004	AU 2003-220757 A1	20/10/2003
		CA 2472807 A1	16/10/2003
		CN1646698 A	27/07/2005
		EP 1493820 A1	05/01/2005
		EP 1493820 B1	22/05/2013
		JP 04-142974B2	03/09/2008
		JP 2004-000187A	08/01/2004
		JP 2004-159508A	10/06/2004
		TW I235671B	11/07/2005
		TW235671 A	11/07/2005
		TW235671 B	11/07/2005
		US 2007-0092928 A1	26/04/2007
		US 2012-0315626 A1	13/12/2012
		US 8828714 B2	09/09/2014
		WO 03-085126 A1	16/10/2003
KR 10-2002-0033080 A	04/05/2002	AU 2001-83605 A1	02/05/2002
		AU 2001-83605 B2	25/05/2006
		CA 2359715 A1	27/04/2002
		EP 1201255 A2	02/05/2002
		EP 1201255 A3	14/01/2004
		EP 1201255 B1	11/06/2008
		JP 04-055929B2	05/03/2008
		JP 2002-228590A	14/08/2002
		US 2002-0137123 A1	26/09/2002
		US 2002-0150962 A1	17/10/2002
		US 6436659 B1	20/08/2002
		US 6458554 B1	01/10/2002

국 제 조 사 보 고 서

국제출원번호
PCT/KR2015/001127

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))

A61L 2/28(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)

A61L 2/28; C12Q 1/04; A01N 59/04; C12Q 1/22; C12Q 1/06; A01N 1/00; C12M 1/34

조사된 기술분야에 속하는 최소문헌 이외의 문헌

한국등록실용신안공보 및 한국공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC
일본등록실용신안공보 및 일본공개실용신안공보: 조사된 최소문헌란에 기재된 IPC

국제조사에 이용된 전산 데이터베이스(데이터베이스의 명칭 및 검색어(해당하는 경우))

eKOMPASS(특허청 내부 검색시스템) & 키워드: 항균, 기체, 발생, 하부, 용기, 상부, 접촉, 미생물, 배지, 홈, 정유, 휘발, 영양, 물질

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	JP 2001-213701 A (EKIKA TANSAN KK) 2001.08.07 요약; 청구항 1; 단락[0010],[0014], [0021]~[0030]; 도면 3 참조	1-3,7-24
Y		4-6,25-27
Y	JP 2562221 B2 (레이몬드시 쿠라로빅크) 1996.12.11 요약; 4쪽 ; 단락[0014]; 제3도면, 제5 도면 참조	4-6,25-27
A	KR 10-2004-0098043 A (샤프 가부시키가이샤) 2004.11.18 요약; 4~6쪽; 도면 1 참조	1-27
A	KR 10-2002-0033080 A (에디컨인코포레이티드) 2002.05.04 요약; 3~5쪽; 도면 1 참조	1-27

☐ 추가 문헌이 C(계속)에 기재되어 있습니다.

☒ 대응특허에 관한 별지를 참조하십시오.

* 인용된 문헌의 특별 카테고리:

"A" 특별히 관련이 없는 것으로 보이는 일반적인 기술수준을 정의한 문헌

"E" 국제출원일보다 빠른 출원일 또는 우선일을 가지나 국제출원일 이후에 공개된 선출원 또는 특허 문헌

"L" 우선권 주장에 의문을 제기하는 문헌 또는 다른 인용문헌의 공개일 또는 다른 특별한 이유(이유를 명시)를 밝히기 위하여 인용된 문헌

"O" 구두 개시, 사용, 전시 또는 기타 수단을 언급하고 있는 문헌

"P" 우선일 이후에 공개되었으나 국제출원일 이전에 공개된 문헌

"T" 국제출원일 또는 우선일 후에 공개된 문헌으로, 출원과 상충하지 않으며 발명의 기초가 되는 원리나 이론을 이해하기 위해 인용된 문헌

"X" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌 하나만으로 청구된 발명의 신규성 또는 진보성이 없는 것으로 본다.

"Y" 특별한 관련이 있는 문헌. 해당 문헌이 하나 이상의 다른 문헌과 조합하는 경우로 그 조합이 당업자에게 자명한 경우 청구된 발명은 진보성이 없는 것으로 본다.

"&" 동일한 대응특허문헌에 속하는 문헌

국제조사의 실제 완료일	국제조사보고서 발송일
2015년 03월 18일 (18.03.2015)	2015년 03월 18일 (18.03.2015)

ISA/KR의 명칭 및 우편주소
대한민국 특허청
(302-701) 대전광역시 서구 청사로 189,
4동 (둔산동, 정부대전청사)
팩스 번호 ++82 42 472 7140

심사관
이재균
전화번호 +82-42-481-8706

국제조사보고서
대응특허에 관한 정보

국제출원번호
PCT/KR2015/001127

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
JP 2001-213701 A	2001/08/07	없음	
JP 2562221 B2	1996/12/11	CA 2010063 A1	1990/09/27
		EP 0390367 A1	1990/10/03
		EP 0390367 B1	1993/12/22
		JP 02-562221B	1996/09/19
		JP 2286073 A	1990/11/26
		US 04885253 A	1989/12/05
KR 10-2004-0098043 A	2004/11/18	AU 2003-220757 A1	2003/10/20
		CA 2472807 A1	2003/10/16
		CN1646698 A	2005/07/27
		EP 1493820 A1	2005/01/05
		EP 1493820 B1	2013/05/22
		JP 04-142974B2	2008/09/03
		JP 2004-000187A	2004/01/08
		JP 2004-159508A	2004/06/10
		TW I235671B	2005/07/11
		TW235671 A	2005/07/11
		TW235671 B	2005/07/11
		US 2007-0092928 A1	2007/04/26
		US 2012-0315626 A1	2012/12/13
		US 8828714 B2	2014/09/09
		WO 03-085126 A1	2003/10/16
KR 10-2002-0033080 A	2002/05/04	AU 2001-83605 A1	2002/05/02
		AU 2001-83605 B2	2006/05/25
		CA 2359715 A1	2002/04/27
		EP 1201255 A2	2002/05/02
		EP 1201255 A3	2004/01/14
		EP 1201255 B1	2008/06/11
		JP 04-055929B2	2008/03/05
		JP 2002-228590A	2002/08/14
		US 2002-0137123 A1	2002/09/26
		US 2002-0150962 A1	2002/10/17
		US 6436659 B1	2002/08/20
		US 6458554 B1	2002/10/01