

(12) 특허협력조약에 의하여 공개된 국제출원

(19) 세계지식재산권기구
국제사무국

(43) 국제공개일
2014년 6월 26일 (26.06.2014)



(10) 국제공개번호
WO 2014/098543 A1

- (51) 국제특허분류: C12N 1/20 (2006.01) A61L 9/00 (2006.01)
C12N 1/21 (2006.01)
- (21) 국제출원번호: PCT/KR2013/012052
- (22) 국제출원일: 2013년 12월 23일 (23.12.2013)
- (25) 출원언어: 한국어
- (26) 공개언어: 한국어
- (30) 우선권정보: 10-2012-0150630 2012년 12월 21일 (21.12.2012) KR
- (71) 출원인: 현대자동차 주식회사 (HYUNDAI MOTOR COMPANY) [KR/KR]; 137-938 서울시 서초구 현릉로 12, Seoul (KR).
- (72) 발명자: 김지완 (KIM, Ji Wan); 446-912 경기도 용인시 기흥구 마북로 105 번길 7 현대자동차마북리연구소속 소 111 호, Gyeonggi-do (KR). 이태희 (LEE, Tae Hee); 445-776 경기도 화성시 동탄지성로 333 행복마을삼성래미안 1 차 101 동 203 호, Gyeonggi-do (KR). 박소윤 (PARK, So Yoon); 156-777 서울시 동작구 사당 2 동 신동아아파트 501 동 103 호, Seoul (KR).
- (74) 대리인: 한라특허법인 (HALLA PATENT & LAW FIRM); 135-739 서울시 강남구 강남대로 262, 캠프양재타워 9층 (도곡동), 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, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, 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, 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).

[다음 쪽 계속]

(54) Title: COMPOSITION FOR PREVENTING ODORS INCLUDING ODORLESS MICROORGANISMS

(54) 발명의 명칭 : 무취 미생물을 포함하는 냄새 방지용 조성물



AA ... Aluminium pin

(57) Abstract: The present invention relates to a composition for preventing odors including odorless microorganisms or a culture medium thereof. In addition, the present invention relates to a method for preventing odors comprising a step of coating the composition for preventing odors. When a biofilm is formed by coating a subject in which odor-generating microorganisms can inhabit with the composition for preventing odors of the present invention, odors can be effectively prevented by significantly preventing the inflow and inhabitation of outside microorganisms which have the possibility of generating odors.

(57) 요약서: 본 발명은 무취 미생물 또는 이의 배양액을 포함하는 냄새 방지용 조성물에 관한 것이다. 또한, 본 발명은 상기 냄새 방지용 조성물을 코팅하는 단계를 포함하는 냄새 방지방법에 관한 것이다. 본 발명의 냄새 방지용 조성물로 악취 유발 미생물이 서식 가능한 대상에 코팅을 하여 바이오필름을 형성시킬 경우, 악취 유발 가능성이 있는 외부 미생물의 유입 및 서식을 유의적으로 차단하여 냄새를 효과적으로 방지할 수 있다.

WO 2014/098543 A1

공개:

- 국제조사보고서와 함께 (조약 제 21 조(3))

명세서

발명의 명칭: 무취 미생물을 포함하는 냄새 방지용 조성물 기술분야

[0001] 본 발명은 무취 미생물 또는 이의 배양액을 포함하는 냄새 방지용 조성물 및 이를 이용한 냄새 방지방법에 관한 것이다.

배경기술

[0002] 깨끗한 공기는 인간의 건강과 웰빙에 기본으로 인식되고 있으며, 불쾌한 냄새를 유발하거나 오염된 공기는 쾌적한 환경을 방해하는 주된 요소로 작용한다. 예를 들면, 밀폐된 조건에서 불만족스러운 실내 공기질은 다음의 두 가지 중요한 요인에 의해서 야기된다. 하나는 밀폐된 환경을 구성하는 구성 물질 자체(건물, 차량 등)으로부터 직접 발생하는 실내공기오염물질과, 다른 한 요인은 인간 활동에 의해 발생되거나 외부로부터 유입된 물질이 원인이 되어 발생된 냄새이다.

[0003] 공조 시스템은 건물, 차량, 철도, 선박, 항공기 등에 있어 공기의 온도, 습도, 기류 및 청정도를 조화시키는 공기 조화에 목적을 두어 실내의 온도를 낮추고 실내 환경을 최적화시키는 시스템이다. 이러한 공조 시스템은 생활수준의 향상으로 인해 보급률이 점점 증가하고 있다. 공조 시스템의 보급률의 증가로 기본적인 기능은 많은 발전이 있어왔으나, 실내 공기의 질을 위한 환경적 측면으로는 아직 해결해야 할 문제가 많이 남아있다.

[0004] 공조 시스템 중에 특히, 에어컨 냄새의 원인은 곰팡이와 세균의 대사 물질에 기한 것으로 알려져 있으나, 해당 곰팡이와 세균의 종류 및 상기 미생물들이 구체적으로 어떠한 대사 물질을 얼마나 분비하는지에 대한 구체적인 자료는 아직까지 밝혀지지 않은 상태에 있다.

[0005] 공조 장치의 구조상, 블로워를 통과한 모든 공기는 에바코어를 통과하게 되는데, 차가운 냉매와 공기의 열교환시, 에바코어 표면에는 온도차에 따른 응축수 응결 현상이 발생되고, 이 응축수 응결이 지속되면 에바코어 표면에는 곰팡이 및 세균이 서식, 번식하기 좋은 환경이 제공된다. 외부 공기에 노출된 에바코어에 곰팡이 및 세균이 증식한 상태에서, 에바코어 표면에 증식한 세균의 대사 물질로 미생물의 휘발성유기화합물(mVOCs)이 발생하며, 에바코어를 통과한 공기가 실내로 송풍되면, 이때 미생물에 의해 발생한 휘발성유기화합물에 의해서, 장기간 사용시에 실내에 곰팡이 및 세균에 의한 악취에 노출될 수 있다.

[0006] 악취가 발생하는 에바코어 표면은 장기간의 사용에 따라 바이오 필름으로 덮여 있고, 이들은 박테리아, 셀클러스터, EPS로 구성되는데, EPS는 단백질(Protein), 폴리사카라이드, 폴리우론산(Polyuronic acid), 핵산(Nucleic), 지질(Lipid) 등의 다양한 성분을 포함하는 바, 에바코어 표면에서는 다양한 세균, 곰팡이가 바이오

필름을 양분 삼아 증식하며 대사물질로 미생물에 의한 유기화합물(mVOCs)를 배출하게 되며 이것이 에어컨 악취의 여러 요인 중에 부패취로 알려져 있다.

[0007] 상기 악취를 제거하기 위하여 다양한 종류의 방향제들이 시판되고 있으나, 이는 상기 에바코어에 서식하는 곰팡이 및 세균을 근본적으로 제거하지 못하고 단지 일시적으로 불쾌한 냄새를 희석하는 역할에 지나지 않는 경우가 많으며, 현재 시판 중인 향균제들 역시도 에바코어에 서식하는 특정 곰팡이 또는 세균에 특이적으로 작용하도록 개발된 사례는 전무한 실정이며, 단지 통상적인 병원균에 대한 향균력이 있다는 이유로 판매되고 있는 상황이다.

[0008] 이에 본 발명자는 대한민국 공개특허 제10-2012-0020309호에서 에바코어 표면에 악취의 원인을 제공하는 세균, 곰팡이의 증착 및 번식이 방지될 수 있도록 에바코어 표면에 무취 혹은 향기나는 특정 미생물로 형성된 바이오필름을 코팅시키는 에바코어의 제조방법을 개시한 바 있다.

[0009] 하지만, 상기 발명에서는 어떠한 세균이 무취 미생물인지를 제시하지 못하였으며, 또한 이를 코팅하면 에바코어에서 생존할 수 있는 지 여부 및 실제 악취 등의 냄새를 유발하는 미생물의 서식이나 냄새를 방지할 수 있는지에 대한 효과 입증에 미흡함이 있었다.

[0010] 상기한 배경기술로서 설명된 사항들은 본 발명의 배경에 대한 이해 증진을 위한 것일 뿐, 이 기술분야에서 통상의 지식을 가진 자에게 이미 알려진 종래기술에 해당함을 인정하는 것으로 받아들여져서는 안 될 것이다.

발명의 요약

기술적 과제

[0011] 본 발명자들은 무취 미생물을 이용하여 악취를 유발하는 미생물들을 효과적으로 제어할 수 있는 방법을 찾고자 노력하였다. 그 결과, 공조장치 내에서 악취를 유발하지 않는 미생물 13종을 분리하는데 성공하고 이들 또는 이들의 조합을 이용하여 바이오 필름을 형성시킬 경우 악취를 유발하는 미생물들의 생육을 차단하여 결과적으로 악취를 방지할 수 있음을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

[0012] 따라서, 본 발명의 목적은 무취 미생물 또는 이의 배양액을 포함하는 냄새 방지용 조성물을 제공하는 데 있다.

[0013] 본 발명의 다른 목적은 상기 냄새 방지용 조성물이 코팅된 에바코어를 제공하는 데 있다.

[0014] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 냄새 방지용 조성물을 에바코어에 코팅하는 단계를 포함하는 공조장치 내 냄새를 유발시키지 않는 무취 에바코어 제조방법을 제공하는 데 있다.

[0015] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 냄새 방지용 조성물을 에바코어에 코팅하는 단계를 포함하는 공조장치 냄새 방지방법을 제공하는 데 있다.

[0016] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 냄새 방지용 조성물을 에바코어에 코팅하는

단계를 포함하는 공조장치 냄새 확인방법을 제공하는 데 있다.

[0017] 본 발명의 또 다른 목적은 상기 공조장치 냄새 방지를 위한 에바코어 코팅 용도의 무취 미생물을 제공하는 데 있다.

[0018] 본 발명의 다른 목적 및 이점은 하기의 발명의 상세한 설명, 청구범위 및 도면에 의해 보다 명확하게 된다.

과제 해결 수단

[0019] 본 발명의 일 양태에 따르면, 무취 미생물 또는 이의 배양액을 포함하는 냄새 방지용 조성물을 제공한다.

[0020] 본 발명자들은 무취 미생물을 이용하여 악취를 유발하는 미생물들을 효과적으로 제어할 수 있는 방법을 찾고자 노력하였으며, 특히 공조장치에서 유발되는 악취의 원인을 근본적으로 차단하고자 노력하였다. 그 결과, 공조장치 내에서 악취를 유발하지 않는 미생물 13종을 분리하는데 성공하고 이들 또는 이들의 조합을 이용하여 바이오 필름을 형성시킬 경우 악취를 유발하는 미생물들의 생육을 차단하여 결과적으로 악취를 방지할 수 있음을 확인하였다.

[0021] 본 명세서에서, 용어“공조장치”라 함은 외부 환경으로부터 일부 또는 전부가 분리된 공간에서 온도, 습도, 공기의 청정도, 흐름 등을 쾌적하게 유지하는 시스템을 총칭하는 의미로 사용된다. 상기 분리된 공간의 바람직한 예로는 건물 내부 또는 차량, 철도, 선박, 항공기 등의 내부와 같이 외부로부터 부분적 또는 전체적으로 분리된 내부의 공간이 될 수 있다. 상기 공조장치의 바람직한 예로는 에어컨을 들 수 있다.

[0022] 공조장치는 그 구조상 블로워를 통과한 모든 공기가 에바코어를 통과하게 되며, 상기 에바코어 표면에는 온도차에 따른 응축수 응결 현상이 지속되어 미생물이 생육하기 좋은 환경이 되어, 장기간의 시간이 자날 경우 바이오 필름(Biofilm)이 형성된다. 이때, 미생물들은 공기 중에 존재하는 실내 및 실외의 다양한 물질들을 영양분으로 대사하며, 대사결과 발생된 휘발성유기화합물(mVOCs)에 의해 악취가 발생되게 된다.

[0023] 바이오 필름은 미생물들이 군집되어 살아가는 군집형태로서, 하나의 막으로 둘러싸인 층의 구조이며, 상기 막은 미생물을 외부 환경으로부터 보호하고 영양분을 공급하는 역할을 한다. 막을 구성하는 성분으로 EPS(Exopolymeric substances)가 있으며, 이는 단백질, 폴리사카라이드, 폴리우론산, 핵산, 지질 등의 다양한 성분을 포함하는 바, 에바코어 표면에서는 다양한 미생물이 이를 양분 삼아 증식하며 대사물질로 악취를 배출하게 된다.

[0024] 본 발명자들은 상기 에바코어로부터 악취를 유발하지 않는 미생물을 분리하였으며, 이들을 배양한 결과 콜로니를 형성하는 미생물들 중에서 우점 균주를 분리 배양하였다. 우점 균주를 분리 및 배양하는 방법은 당업계에 공지된 다양한 방법을 이용할 수 있으며, 예를 들어, 희석비율, 콜로니의 색, 크기, 모양 등의 morphology적인 접근을 통하여 우점 미생물을 선별할 수 있다.

- [0025] 상기 우점 미생물은 메틸로박테리움, 아시네토박터, 바실러스, 브레비바실러스, 데이노코쿠스, 슈도모나스, 스펅고모나스 또는 플라보박테리움 미생물을 포함하며, 바람직하게는 메틸로박테리움 아쿠아티쿰 (*Methylobacterium aquaticum*), 메틸로박테리움 브라키아툼 (*Methylobacterium brachiatum*), 메틸로박테리움 플라타니 (*Methylobacterium platani*), 아시네토박터 존스니 (*Acinetobacter johnsonii*), 바실러스 베트남렌시스 (*Bacillus vietnamensis*), 브레비바실러스 인보카투스 (*brevibacillus invocatus*), 데이노코쿠스 피쿠스 (*Deinococcus ficus*), 레이프소니아 솔리 (*Leifsonia soli*), 슈도모나스 나이트로리듀센스 (*Pseudomonas nitroreducens*), 스펅고모나스 아쿠아틸리스 (*sphingomonas aquatilis*), 메틸로박테리움 코마가태 (*Methylobacterium komagatae*), 데이노코쿠스 아파첸시스 (*Deinococcus apachensis*) 또는 플라보박테리움 오케아노세디멘툼 (*Flavobacterium oceanosedimentum*)을 포함한다.
- [0026] 상기 미생물들은 한국미생물보존센터에 2012년 11월 14일 또는 2013년 12월 10일자로 기탁되어 다음의 기탁번호를 부여 받았다: 메틸로박테리움 아쿠아티쿰 HKMC-1 (기탁번호: KCCM11325P), 메틸로박테리움 브라키아툼 HKMC-2(기탁번호: KCCM11326P), 메틸로박테리움 플라타니 HKMC-3 (기탁번호: KCCM11327P), 아시네토박터 존스니 HKMC-4 (기탁번호: KCCM11328P), 바실러스 베트남렌시스 HKMC-5 (기탁번호: KCCM11329P), 브레비바실러스 인보카투스 HKMC-6 (기탁번호: KCCM11330P), 데이노코쿠스 피쿠스 HKMC-7 (기탁번호: KCCM11331P), 레이프소니아 솔리 HKMC-8 (기탁번호: KCCM11332P), 슈도모나스 나이트로리듀센스 HKMC-9 (기탁번호: KCCM11333P), 스펅고모나스 아쿠아틸리스 HKMC-10 (기탁번호: KCCM11334P), 메틸로박테리움 코마가태 HKMC-11 (기탁번호: KCCM11335P), 데이노코쿠스 아파첸시스 HKMC-12 (기탁번호: KCCM11499P) 및 플라보박테리움 오케아노세디멘툼 HKMC-13 (기탁번호: KCCM11500P).
- [0027] 상기 미생물들은 단독으로 또는 서로 다른 미생물 간의 조합으로 상기 냄새 방지용 조성물에 포함될 수 있다.
- [0028] 본 발명의 냄새 방지용 조성물은 악취 유발 미생물의 서식 및/또는 이들에 의한 악취를 차단하는 목적으로 사용될 수 있다. 즉, 본 발명의 조성물은 악취가 발생하는 장치 (예를 들어, 공조장치, 폐수처리장치 등), 물건 (예를 들어, 쓰레기통, 변기 등), 동물 (예를 들어, 오염된 가축 등), 인체 (예를 들어, 구강 내, 당뇨 발 등)의 전체 또는 특정 부분에 코팅 또는 분사되어 악취를 발생하는 원인 미생물의 서식을 차단하기 위한 용도로 사용될 수 있다.
- [0029] 본 발명의 냄새 방지용 조성물은 상기 코팅 대상의 차이에 따른 바이오 필름 형성능을 향상시키기 위해 당업계에서 공지된 다양한 배지 성분을 추가로 포함할 수 있다. 상기 포함가능한 배지는 예를 들어, 아가, 젤라틴, 알기네이트, 카라기난 또는 펙틴 배지 일 수 있으며, 공조장치 내 에바코어에 적용 시 바람직하게는 PTYG 배지, R2A 배지 또는 LB 배지일 수 있다.

- [0030] 또한, 본 발명의 냄새 방지용 조성물은 악취를 차단하거나 악취 원인균을 예방 또는 제거하기 위해 상기 무취 미생물 외에도 방향제, 살균제, 향균제 등을 추가로 포함할 수 있다.
- [0031] 본 발명의 바람직한 구현예에 따르면, 본 발명의 조성물은 공조장치에서 발생하는 냄새를 방지하기 위한 것이다.
- [0032] 본 발명의 조성물을 적용 가능한 공조장치는 건물, 차량, 철도, 선박, 항공기 등에 설치될 수 있는 것으로, 공기의 온도, 습도, 기류 또는 청정도를 조화시키는 목적으로 사용되는 것을 포함한다.
- [0033] 본 발명의 바이오필름을 코팅할 수 있는 대상은 공조장치이며, 공조장치는 압축기, 블로워, 에바코어 등을 포함하는데, 특히 본원 발명의 바이오 필름을 코팅시킬 수 있는 바람직한 대상은 에바코어(evaporator core)이다.
- [0034] 구체적으로, 상기 공조장치 내 에바코어 (evaporator core) 표면은 공기의 열교환에 따른 응축수 응결 현상에 의해 세균이 서식, 번식하기 좋은 환경이 되며, 부착된 세균은 일정 시간이 지날 경우 바이오 필름을 형성하여 제거하기 어려운 안정된 군집으로 생존하게 된다. 즉, 악취 미생물의 번식을 억제할 수 있도록 미리 무취 미생물을 번식시키는 것이다.
- [0035] 상기의 특성을 이용하여, 본 발명은 상기 공조장치 또는 에바코어에 우점종 또는 생존력이 우수한 무취 미생물을 미리 코팅하면 이들만의 군집으로 에바코어 내에 바이오필름을 형성할 수 있으며, 악취 및 악취를 유발할 수 있는 다른 미생물의 증착 및 번식을 유의적으로 억제할 수 있다는 것을 발견하였다(실시예 9 내지 14).
- [0036] 본 발명의 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 냄새 방지용 조성물이 코팅된 에바코어 (evaporator core) 및 이의 제조방법을 제공한다.
- [0037] 에바코어의 핀(fin)은 알루미늄 또는 알루미늄 합금인 것을 특징으로 하며, 에바코어에 항균처리를 한 알루미늄 또는 항균처리를 하지 않은 합금 재질을 이용하여 에바코어를 제조한다. 하지만 에바코어의 재질은 알루미늄 또는 알루미늄 합금에 한정되지 않으며, 일반적으로 에바코어는 알루미늄 이외에도 구리(동) 등 열전도율이 좋고 내부식성 뛰어난 금속은 모두 재질로 이용 가능하며 합금 제조로도 이용 가능하다. 전기차 등에는 펠티어(PELTIER) 소자에 열 교환기를 연결하여 사용할 수 있으며, 이처럼 열교환을 용이하게 하는 동일 유사한 구조라면 모두 재질로 이용할 수 있다.
- [0038] 상기 무취 미생물 또는 이의 배양액을 포함하는 냄새 방지용 조성물을 이용하여 에바코어를 코팅하는 방법은 당업계에 공지된 다양한 방법 (예를 들어, 분사, 도포, 침지)을 이용할 수 있으며, 바람직하게는 에바코어 전체에 골고루 코팅이 될 수 있도록 에바코어를 무취 미생물의 배양액에 침지시켜서 에바코어 내 fin 들에 골고루 코팅이 될 수 있도록 하는 것이 좋다. 상기 코팅은 1회 내지 수회에 걸쳐 수행될 수 있다.
- [0039] 상기 무취 미생물의 배양액은 O.D. (optical density) 값이 0.3 내지 0.9인 미생물

배양액을 이용하는 것이 바람직하며, 보다 바람직하게는 0.4 내지 0.8의 값이 좋다.

- [0040] O.D. 값이 0.3 내지 0.9인 미생물 배양액을 이용할 경우 부착될 수 있는 미생물의 농도는 10^4 cfu/g 내지 10^8 cfu/g이며, O.D. 값이 0.4 내지 0.8인 미생물 배양액을 이용할 경우 부착될 수 있는 미생물의 농도는 10^5 cfu/g 내지 10^7 cfu/g이다. 실제 중고차에 포함된 에바코어에 존재하는 미생물의 농도가 10^6 cfu/g 정도임을 고려할 때, O.D. 값이 0.4 내지 0.8인 미생물 배양액을 이용하여, 10^5 cfu/g 내지 10^7 cfu/g의 농도로 미생물을 부착시키는 것이 실차 적용 측면에서 가장 바람직하다.
- [0041] 상기 방식으로 코팅된 무취 미생물은 에바코어 표면에 균일하게 분포 및 서식하여 장기간 (30일 이상, 60일 이상 또는 90일 이상) 안정화된 바이오필름을 형성할 수 있다 (실시에 11 내지 13).
- [0042] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 냄새 방지용 조성물을 에바코어에 코팅하는 단계를 포함하는 공조장치 냄새 방지방법을 제공한다.
- [0043] 본 발명의 일 실시예에 따르면, 본 발명의 조성물을 코팅한 에바코어가 실제 외부 공기 중 조건에서 무취 미생물의 균집을 유지하는 지 및 기타 악취 유발 미생물의 부착과 서식을 차단할 수 있는 지를 실제 차량에 설치된 것과 유사하게 자동차 지붕에 지그를 설치하고 이에 상기 에바코어를 장착하여 실험하였다. 실험결과 60일이 지난 시점까지 처음 도포된 무취 미생물의 균집을 유지함을 확인하였으며, 악취 유발의 가능성이 있는 외부 미생물은 검출되지 않았다 (실시에 14).
- [0044] 따라서, 본 발명의 무취 미생물 또는 이들의 조합을 포함하는 냄새 방지용 조성물로 코팅을 하여 바이오필름을 형성시킬 경우 악취 유발 가능성이 있는 외부 미생물의 유입 및 서식을 유의적으로 차단하여, 공조장치의 냄새를 효과적으로 방지할 수 있다.
- [0045] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 상기 냄새 방지용 조성물을 에바코어에 코팅하는 단계를 포함하는 공조장치 냄새 확인방법을 제공한다.
- [0046] 상기 냄새 방지용 조성물에 포함된 미생물이 실제 냄새를 발생하는 지 여부는 이들 미생물이 먹이로 하여 대사하는 영양 공급원의 성분에 따라 달라질 수도 있는 바, 상기 미생물이 적용되는 실 산업에서의 영양 공급원을 투여 시에도 냄새가 발생되지 않는 것이 중요할 수 있다.
- [0047] 공조장치의 경우 미생물들은 공기 중에 존재하는 실내 및 실외의 다양한 물질들을 영양분으로 대사하며, 실내 및 실외의 공기 오염물질이나 배기가스 성분 (휘발유, 경유, LPG 등의 석유류) 등이 이들 미생물의 영양 공급원이 되는 바, 이들 영양 공급원을 상기 미생물이 코팅된 에바코어에 투입하여 실제 산업에 적용 시 공조장치의 냄새 발생 여부를 미리 확인할 수 있다.
- [0048] 본 발명의 또 다른 양태에 따르면, 본 발명은 공조장치 냄새 방지를 위한 에바코어 코팅 용도의 미생물인 *메틸로박테리움 아쿠아티쿰* HKMC-1

(기탁번호: KCCM11325P), 메틸로박테리움 브라키아툼 HKMC-2(기탁번호: KCCM11326P), 메틸로박테리움 플라타니 HKMC-3 (기탁번호: KCCM11327P), 아시네토박터 존스니 HKMC-4 (기탁번호: KCCM11328P), 바실러스 베트나멘시스 HKMC-5 (기탁번호: KCCM11329P), 브레비바실러스 인보카투스 HKMC-6 (기탁번호: KCCM11330P), 테이노코쿠스 피쿠스 HKMC-7 (기탁번호: KCCM11331P), 레이프소니아 솔리 HKMC-8 (기탁번호: KCCM11332P), 슈도모나스 나이트로리듀센스 HKMC-9 (기탁번호: KCCM11333P), 스팅고모나스 아쿠아틸리스 HKMC-10 (기탁번호: KCCM11334P), 메틸로박테리움 코마가태 HKMC-11 (기탁번호: KCCM11335P), 테이노코쿠스 아파켄시스 HKMC-12 (기탁번호: KCCM11499P) 또는 플라보박테리움 오케아노세디멘툼 HKMC-13 (기탁번호: KCCM11500P)을 제공한다.

[0049] 상기 미생물은 단독으로 또는 조합하여 공조장치 냄새 방지를 위한 에바코어 코팅 용도로 사용할 수 있다.

발명의 효과

[0050] 본 발명의 특징 및 이점을 요약하면 다음과 같다:

[0051] (i)본 발명은 무취 미생물 또는 이의 배양액을 포함하는 냄새 방지용 조성물을 제공한다.

[0052] (ii)또한, 본 발명은 상기 냄새 방지용 조성물이 코팅된 에바코어 및 이의 제조방법을 제공한다.

[0053] (iii) 추가적으로, 본 발명은 상기 냄새 방지용 조성물을 에바코어에 코팅하는 단계를 포함하는 냄새 방지방법을 제공한다.

[0054] (iv) 본 발명의 냄새 방지용 조성물로 악취 유발 미생물이 서식 가능한 대상에 코팅을 하여 바이오필름을 형성시킬 경우, 악취 유발 가능성이 있는 외부 미생물의 유입 및 서식을 유의적으로 차단하여 냄새를 효과적으로 방지할 수 있다.

[0055]

도면의 간단한 설명

[0056] 도 1은 알루미늄 편을 멸균시키고 영양 배지에 Dipping하고 이후 무취 미생물을 접종 시키기 위한 패트리디쉬를 나타낸다.

[0057] 도 2는 30일 생존평가 1번 조합의 colony 색상별 개체 수를 나타낸다.

[0058] 도 3은 30일 생존평가 1번 조합의 colony 색상별 비율을 나타낸다.

[0059] 도 4는 30일 생존평가 1번 조합의 REP-PCR에 따른 균주 비율을 나타낸다.

[0060] 도 5는 30일 생존평가 2번 조합의 REP-PCR에 따른 균주 비율을 나타낸다.

[0061] 도 6은 30일 생존평가 3번 조합의 REP-PCR에 따른 균주 비율을 나타낸다.

[0062] 도 7은 30일 생존평가 3번 조합의 REP-PCR에 따른 *Methylobacterium* sp. 균주 비율을 나타낸다.

[0063] 도 8은 30일 생존평가 4번 조합의 REP-PCR에 따른 균주 비율을 나타낸다.

- [0064] 도 9는 30일 생존평가 5번 조합의 REP-PCR에 따른 균주 비율을 나타낸다.
 [0065] 도 10은 30일 생존평가 A 조합의 REP-PCR에 따른 균주 비율을 나타낸다.
 [0066] 도 11은 30일 생존평가 B 조합의 REP-PCR에 따른 균주 비율을 나타낸다.
 [0067] 도 12는 30일 생존평가 C 조합의 REP-PCR에 따른 균주 비율을 나타낸다.
 [0068] 도 13은 30일 생존평가 D 조합의 REP-PCR에 따른 균주 비율을 나타낸다.
 [0069] 도 14는 30일 생존평가 E 조합의 REP-PCR에 따른 균주 비율을 나타낸다.
 [0070] 도 15는 30일 생존평가 F 조합의 REP-PCR에 따른 균주 비율을 나타낸다.
 [0071] 도 16은 90일 생존평가에서 *Methylobacterium aquaticum*과 *Methylobacterium komagatae* 조합의 개체 수를 나타낸다.
 [0072] 도 17은 90일 생존평가에서 *Methylobacterium aquaticum*과 *Methylobacterium komagatae* 조합의 REP-PCR에 따른 균주 비율을 나타낸다.
 [0073] 도 18은 지그에서의 *Methylobacterium aquaticum*과 *Methylobacterium komagatae* 조합의 개체 수를 나타낸다.
 [0074] 도 19는 지그에서의 *Methylobacterium aquaticum*과 *Methylobacterium komagatae* 조합의 REP-PCR 분석에 따른 개체 수 변화를 나타낸다.

발명의 실시를 위한 최선의 형태

- [0075] 이하, 실시예를 통하여 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 한다. 이들 실시예는 오로지 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 요지에 따라 본 발명의 범위가 이들 실시예에 의해 제한되지 않는다는 것은 당업계에서 통상의 지식을 가진 자에 있어서 자명할 것이다.

[0076] 실시예

[0077] 실시예 1: 악취 냄새 중고차 확보

[0078] [Table 1]

No.	차종	sample 종류
1	차종 A	에바코어
2	차종 B	에바코어
3	차종 C	에바코어
4	차종 D	에바코어
5	차종 E	에바코어

[0079]

- [0080] 본 발명자는 악취 냄새가 나는 중고차 5종을 확보하여 각각 차종 A 내지 차종 E에 장착되어 있는 에바코어를 떼어내어 에바코어 시편을 샘플링하고자 하였다.

[0081] 실시예 2: 에바코어 시편 샘플링

- [0082] 상기 악취 중고차 A 내지 E로부터 확보한 에바코어로부터 에바코어 sample을 사용하기 전까지 4°C에서 냉장 보관되었으며, polyethylene bag으로 밀봉하여 보관하였다. 미생물을 분리 배양하기 위해 각각의 에바코어에서 전면부 및

후면부를 포함한 임의의 부위에서 fin 시료를 멸균된 롱 노즈 플라이어를 사용하여 각 5 g씩 채취한 후 혼합하여 사용하였다.

[0083] **실시예 3 : 에바코어로부터 미생물의 탈리 과정**

[0084] 하기 과정을 통해 에바코어로부터 미생물의 탈리 절차 및 방법에 대하여 서술하였다.?

[0085] ① 에바코어에서 추출한 시료를 섞어 mixer에 넣는다.

[0086] ② 멸균된 1× Phosphate buffed saline(PBS)를 200 ml mixer에 넣는다.

[0087] ③ 혼합된 시료와 PBS를 30초간 mixing 한다.

[0088] ④ mixer를 ice에 1분간 둔다.

[0089] ⑤ ③-④ step을 2회 추가 반복한다.

[0090] ⑥ 현탁액을 4°C에서 3분간 13000 rpm으로 centrifuge한다.

[0091] ⑦ 상등액을 취해서 새 tube에 옮겨 담는다.

[0092] ⑧ 멸균된 면봉을 상등액에 적셔 샘플을 채취한 에바코어의 표면을 수회 닦아낸다.

[0093] ⑨ 닦아낸 면봉은 상등액에 head만을 넣고 vortexing 한다.

[0094] ⑩ ⑥번 step에서 획득한 침전물과 ⑨번 혼합물을 섞어 접종원액으로 사용한다.

[0095] 상기 ① 내지 ⑩의 과정을 차종 A 내지 차종 E에 장착되어 있는 에바코어에 대하여 각각 물리적 탈리를 시행하여 미생물을 분리하였다.

[0096] **실시예 4 : 미생물의 분리 배양**

[0097] 에어컨의 세균의 분리는 일반적으로 일반세균이라 하는 호기성 종속영양 세균을 종속영양 평판 배양을 통하여 분리한다. 일반세균의 분리에 사용하는 복합영양배지는 PTYG agar medium, R2A agar medium 2가지를 사용한다. PTYG agar medium은 Peptone 0.25 g (Difco), Triptone 0.25 g (Difco), Yeast extract 0.5 g (Difco), Glucose 0.5 g (Difco), MgSO₄ 30 mg (Sigma), CaCl₂ 3 mg (Sigma), Bacto agar 15 g (Difco)을 증류수 980 ml에 넣고 pH 7.0으로 맞춘 후 121°C에서 15분간 고압멸균 하였다. R2A arar medium은 Yeast extract 0.5 g (Difco), Proteose peptone No.3 0.5 g (Difco), Casamino acids 0.5 g (Difco), Dextrose 0.5 g (Difco), Soluble starch 0.5 g (Difco), Sodium pyruvate 0.3 g (Difco), Dipotassium sulfate 0.3 g (Difco), Magnesium sulfate 0.05 g (Difco), Bacto agar 15 g (Difco)을 증류수 980 ml에 넣고 pH 7.2를 맞춘 뒤 121°C에서 15분간 고압멸균 하였다. 비우점 일반세균의 분리를 위하여 3가지 종류의 항생제를 사용하며 (표 2), 각 항생제는 100 ppm의 농도로 필터멸균 후 배지온도가 50°C 정도 되었을 때 접종하여 항생제 medium을 제작하였다.

[0098]

[Table 2]

No.	항생제	계열	제조사
1	Kanamycin	Aminoglycoside	Sigma
2	Ampicillin	beta-lactam	Sigma
3	Chloramphenicol	Chloramphenicol	Sigma

[0099]

[0100] **실시예 5 : 진균(곰팡이)의 분리 배양**

[0101] 에어컨 진균(곰팡이)의 분리배양은 영양배지에서 호기성평판배양을 통하여 분리한다. 진균(곰팡이)의 분리배양에 사용하는 배지는 Potato dextrose agar medium, Malt extract agar medium 2가지를 사용하였다. Potato dextrose agar medium은 Potato starch 4 g (Difco), Dextrose 20 g (Difco), Bacto agar 15 g (Difco)를 증류수 980 ml에 넣고 pH 5.1을 맞춘 뒤 121°C에서 15분간 고압멸균하였다. Malt extract agar medium은 Malt extract 20 g (Difco), Bacto agar 15 g (Difco)를 증류수 980 ml에 넣고 pH 5.0을 맞춘 뒤 121°C에서 15분간 고압멸균하였다.

[0102] 진균의 분리 배양을 위하여 90mm×15mm의 petri dish를 사용하였고, 배양된 진균을 각각 분리 배양하기 위해서는 60mm×15mm의 petri dish가 사용되었다.

[0103]

[0104] **실시예 6 : 에바코어 미생물이 배양된 전체 배지에서 우점 균주의 분리 배양**

[0105] 우점 균주를 분리배양하기 위해서는 우선 희석비율과 콜로니 색, 크기, 모양 등 morphology적인 접근을 통하여 여러 가지 우점 균주를 선별하여야 하므로, 하기 절차에 따라 우점 균주를 분리 배양한다.

[0106] ? ① 분리배양된 배지에서 곰팡이와 박테리아를 구분하여 분리한다.

[0107] ② morphology가 다른 여러 가지 세균을 loop를 사용하여 복합배지에 접종 순수 분리한다.

[0108] ③ 접종된 배지 중 가장 생육이 좋은 배지를 선택하여 계대 배양한다.

[0109] ④ 곰팡이는 균사의 끝부분을 scalpel을 사용하여 분리한 뒤 복합배지에 접종한다.

[0110] ⑤ 곰팡이 균주도 접종된 배지 중 가장 생육이 좋은 배지를 선택하여 계대 배양한다.

[0111] **실시예 7 : 에바코어 우점 박테리아의 유전적 특성의 분석**

[0112] REP-PCR 패턴 분석을 통한 핑거프린트(Fingerprints)조사

[0113] REP-PCR은 세균 염색체의 구조를 분석하는 분자생물학적 방법으로서 각 세균 균주를 다른 세균과 구별하여 식별할 수 있는 fingerprinting 방법이다.

REP-PCR을 수행하기 위해 하기의 각 절차에 따라 유전적 특성을 분석하였다.

[0114] ? (1) Cell lysis 절차

[0115] ① Lyse-N-Go PCR Reagent (Thermo) 2.5 μ l를 PCR tube에 담는다.

[0116] ② 클린벤치에서 콜로니를 피펫으로 따서 위 tube에 넣고 pipetting한다. 이 때 따는 양은 용액이 약간 뿌영게 될 정도로 되지 않도록 주의한다.

[0117] ③ Manufacturer의 지시에 따라 PCR machine에서 배양한다.

[0118] ④ 하기의 표 3에 기재되어 있는 Lysis 프로그램에 의한 사이클을 반복하고, 9 사이클에서 80°C가 되었을 때 끄지 말고 그대로 둔다.

[0119] [Table 3]

Cycle	Temperature(°C)	Time(seconds)
1	65	30
2	8	30
3	65	90
4	97	180
5	8	60
6	65	180
7	97	60
8	65	60
9	80	hold

[0120]

[0121] **(2) PCR reaction**

[0122] 하기 표 4에 기재되어 있는 PCR 반응에 필요한 성분들을 필요한 양에 맞게 혼합하여 반응 혼합물을 제조하였고 이를 이용하여 표 5에 기재된 바와 같이 예비 변성 단계(pre-denaturation) 94°C에서 7 분, 변성 단계(denaturation) 92°C에서 1분, 냉각 단계(annealing)에서 51.5°C에서 1분, 연장(extension) 단계에서 65°C에서 8분간 변성, 냉각, 연장 과정을 33회 반복하여 PCR 증폭 과정을 수행하였다.

[0123] [Table 4]

①	dNTP (2.5 mM each)	12.5 μ l
②	Gitschier buffer	5.0 μ l
③	DMSO (100%)	2.5 μ l
④	Autoclaved 3° D.W.	0.3 μ l
⑤	BOXA1R primer(50 pmole/ μ l)	1.0 μ l
5'CTACGGCAAGGCGACGCTGACG		
⑥	BSA (10mg/ml)	0.4 μ l
⑦	Bacterial DNA	2.5 μ l
⑧	Taq polymerase(Roche) (5 U/ μ l)	0.8 μ l

[0124]

[0125] [Table 5]

step 1	93°C	7min
step 2	92°C	1min
step 3	51.5°C	1min
step 4	65°C	8min
step 2,3,4 : additional 33 cycles		
step 6	65°C	16min
step 7	4°C	

[0126]

[0127] **3) Gel electrophoresis**

[0128] 각각의 PCR에 의해 증폭된 DNA 단편을 취하여 EtBr을 첨가한 1.2-1.5% agarose gel을 사용하며, 6x dye를 sample과 1:5비율로 섞어 가능한 많은 양을 loading하였다. 대부분의 PCR product들은 100~1000 bp 사이에 있으므로 100 bp ladder를 함께 loading하여, 가능한 한 천천히 (50 V) bromophenol blue와 xylene cyanol dye의 중간이 전체 gel의 중간까지 가도록 전기 영동한다. gel상의 DNA pattern이 같은 균주는 동일한 균주로 간주한다.

[0129] **(4) 에어컨 우점 박테리아의 16S rRNA 유전자 분석을 통한 동정**

[0130] 16S rRNA(ribosomal Ribonucleic acid) 유전자는 박테리아의 유전학적 분류 동정을 위해 사용되며, REP-PCR을 통하여 분류된 박테리아의 genus 및 species 수준에서의 동정이 가능하다. 16S rRNA는 다양한 단백질들과 상호작용하여 리보솜(Ribosome)을 구성하는 RNA로서, 그 완전한 서열이나 올리고뉴클레오티드(Oligonucleotide) 목록에 대한 염기서열이 2000 종 이상의 세균에서 밝혀졌기 때문에 16S rRNA의 유전자 유사성에 근거하여 세균을 몇 가지 주요군으로 나눌 수 있다. 상기 16S rRNA 유전자 염기서열의 변화율이 대부분의 계층에 있는 다른 유전자 염기서열보다 월등히 적기 때문에 16S rRNA 염기서열 유사도의 정도가 생물간의 계통학적 거리를 반영하는 것으로 인식되고 있다. 상기 16S rRNA 유전자 절편의 염기서열을 분석하여 그 유사도에 따라 미생물을 동정하는 방법은 상술한 지방산 분석 및 탄수화물 자화능 분석법과 함께 미생물, 특히 산업적으로 유용한 미생물을 동정하는데 대표적인 동정방법으로 이용되어 왔다.

[0131] <16S rRNA PCR>

[0132] PCR conditions (Total 50 μ l): DNA와 Taq를 제외한 나머지 용액을 하기 표 6에 기재되어 있는 것과 같이 필요량만큼 혼합하여 위 lysis 용액에 44.5 μ l를 가하였다. 이 후 표 7에 기재되어 있는 바와 같이 예비 변성 단계(pre-denaturation)

94°C에서 5분, 변성 단계(denaturation) 94°C에서 1분, 냉각 단계(annealing) 55°C에서 1분, 연장 단계(extension) 72°C에서 1분 30초를 수행하고, 변성, 냉각 및 연장 단계를 29회 수행하여 PCR 증폭 과정을 수행하였다.

[0133] [Table 6]

Autoclaved 3° D.W.	22 μ l
10xbuffer (Roche)	5 μ l
dNTP (Roche, 2.5 mM)	5 μ l
DMSO	5 μ l
BSA (10 mg/ml)	2.5 μ l
27mf (20 pmole/ μ l)	2.5 μ l
1492r (20 pmole/ μ l)	2.5 μ l
DNA	5 μ l
Taq (Roche)	0.5 μ l

[0134] [Table 7]

step 1	94°C	5min
step 2	94°C	1min
step 3	55°C	1min
step 4	72°C	1min 30sec
Go to step 2 : additional 29 cycles		
step 6	72°C	10min
step 7	4°C	hold

[0135]

[0136] **(5) PCR purification**

[0137] 16S-rRNA PCR을 통해 증폭한 산물을 Qiaquick PCR purification kit를 이용하여 하기의 절차에 따라 Purification하였다.?

[0138] ① PCR product의 5배의 PB buffer를 넣는다.

[0139] ② 혼합된 액을 QIAquick column에 분주한다.

[0140] ③ DNA를 binding하기 위하여 1분간 centrifuge 한 후 통과된 혼합액을 제거한다.

[0141] ④ wash를 위하여 750 μ l의 PE buffer를 QIAquick column에 넣고 1분간 centrifuge한 뒤 통과된 혼합액을 제거한다.

[0142] ⑤ 1분간 다시 centrifuge한다.

[0143] ⑥ QIAquick column 새 tube에 옮긴다.

- [0144] ⑦ DNA를 추출하기 위하여 30 μ l의 EB buffer를 넣고 1분간 둔다.
- [0145] ⑧ 1분간 centrifuge하여 EB에 녹은 DNA를 tube에 모이게 한다.
- [0146] (6) 분리한 각 미생물의 명칭 및 미생물의 특성
- [0147] <미생물 1>
- [0148] 1. 미생물의 명칭 : HKMC-1
- [0149] 속명 : *Methylobacterium*
- [0150] 종명 : *aquaticum*
- [0151] 기탁번호: KCCM11325P (2012.11.14)
- [0152] 2. 복원조건
- [0153] 가. 복원제
- [0154] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0155] (2) pH : 7.0
- [0156] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0157] 나. 온도(°C) 28°C에서 7일간 배양
- [0158] 3. 배지
- [0159] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0160] (2) pH : 7.0
- [0161] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0162] 4. 배양조건
- [0163] 가. 호기성, 혐기성 : 호기성
- [0164] 나. 온도(°C) 28°C
- [0165] 다. 진탕, 정치(액체, 고체) 구분없이 사용가능
- [0166] 5. 보존조건
- [0167] 온도(°C) -70°C
- [0168] <미생물 2>
- [0169] 1. 미생물의 명칭 : HKMC-2
- [0170] 속명 : *Methylobacterium*
- [0171] 종명 : *brachiatum*
- [0172] 기탁번호: KCCM11326P (2012.11.14)
- [0173] 2. 복원조건
- [0174] 가. 복원제
- [0175] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0176] (2) pH : 7.0
- [0177] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0178] 나. 온도(°C) 28°C에서 7일간 배양

- [0179] 3. 배지
- [0180] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0181] (2) pH : 7.0
- [0182] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0183] 4. 배양조건
- [0184] 가. 호기성, 혐기성 : 호기성
- [0185] 나. 온도(°C) 28°C
- [0186] 다. 진탕, 정치(액체, 고체) 구분없이 사용가능
- [0187] 5. 보존조건
- [0188] 온도(°C) -70°C
- [0189] <미생물 3>
- [0190] 1. 미생물의 명칭 : HKMC-3
- [0191] 속명 : *Methylobacterium*
- [0192] 종명 : *platani*
- [0193] 기탁번호: KCCM11327P (2012.11.14)
- [0194] 2. 복원조건
- [0195] 가. 복원제
- [0196] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0197] (2) pH : 7.0
- [0198] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0199] 나. 온도(°C) 28°C에서 7일간 배양
- [0200] 3. 배지
- [0201] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0202] (2) pH : 7.0
- [0203] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0204] 4. 배양조건
- [0205] 가. 호기성, 혐기성 : 호기성
- [0206] 나. 온도(°C) 28°C
- [0207] 다. 진탕, 정치(액체, 고체) 구분없이 사용가능
- [0208] 5. 보존조건
- [0209] 온도(°C) -70°C
- [0210] <미생물 4>
- [0211] 1. 미생물의 명칭 : HKMC-4
- [0212] 속명 : *Acinetobacter*
- [0213] 종명 : *johnsonii*

- [0214] 기탁번호: KCCM11328P (2012.11.14)
- [0215] 2. 복원조건
- [0216] 가. 복원제
- [0217] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0218] (2) pH : 7.0
- [0219] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0220] 나. 온도(°C) 28°C에서 7일간 배양
- [0221] 3. 배지
- [0222] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0223] (2) pH : 7.0
- [0224] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0225] 4. 배양조건
- [0226] 가. 호기성, 혐기성 : 호기성
- [0227] 나. 온도(°C) 28°C
- [0228] 다. 진탕, 정치(액체, 고체) 구분없이 사용가능
- [0229] 5. 보존조건
- [0230] 온도(°C) -70°C
- [0231] <미생물 5>
- [0232] 1. 미생물의 명칭 : HKMC-5
- [0233] 속명 : *Bacillus*
- [0234] 종명 : *vietnamensis*
- [0235] 기탁번호: KCCM11329P (2012.11.14)
- [0236] 2. 복원조건
- [0237] 가. 복원제
- [0238] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0239] (2) pH : 7.0
- [0240] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0241] 나. 온도(°C) 28°C에서 7일간 배양
- [0242] 3. 배지
- [0243] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0244] (2) pH : 7.0
- [0245] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0246] 4. 배양조건
- [0247] 가. 호기성, 혐기성 : 호기성

- [0248] 나. 온도(°C) 28°C
- [0249] 다. 진탕, 정치(액체, 고체) 구분없이 사용가능
- [0250] 5. 보존조건
- [0251] 온도(°C) -70°C
- [0252] <미생물 6>
- [0253] 1. 미생물의 명칭 : HKMC-6
- [0254] 속명 : *Brevibacillus*
- [0255] 종명 : *invocatus*
- [0256] 기탁번호: KCCM11330P (2012.11.14)
- [0257] 2. 복원조건
- [0258] 가. 복원제
- [0259] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0260] (2) pH : 7.0
- [0261] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0262] 나. 온도(°C) 28°C에서 7일간 배양
- [0263] 3. 배지
- [0264] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0265] (2) pH : 7.0
- [0266] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0267] 4. 배양조건
- [0268] 가. 호기성, 혐기성 : 호기성
- [0269] 나. 온도(°C) 28°C
- [0270] 다. 진탕, 정치(액체, 고체) 구분없이 사용가능
- [0271] 5. 보존조건
- [0272] 온도(°C) -70°C
- [0273] <미생물 7>
- [0274] 1. 미생물의 명칭 : HKMC-7
- [0275] 속명 : *Deinococcus*
- [0276] 종명 : *ficus*
- [0277] 기탁번호: KCCM11331P (2012.11.14)
- [0278] 2. 복원조건
- [0279] 가. 복원제
- [0280] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0281] (2) pH : 7.0
- [0282] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분

- [0283] 나. 온도(°C) 28°C에서 7일간 배양
- [0284] 3. 배지
- [0285] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0286] (2) pH : 7.0
- [0287] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0288] 4. 배양조건
- [0289] 가. 호기성, 혐기성 : 호기성
- [0290] 나. 온도(°C) 28°C
- [0291] 다. 진탕, 정치(액체, 고체) 구분없이 사용가능
- [0292] 5. 보존조건
- [0293] 온도(°C) -70°C
- [0294] <미생물 8>
- [0295] 1. 미생물의 명칭 : HKMC-8
- [0296] 속명 : *Leifsonia*
- [0297] 종명 : *soli*
- [0298] 기탁번호: KCCM11332P (2012.11.14)
- [0299] 2. 복원조건
- [0300] 가. 복원제
- [0301] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0302] (2) pH : 7.0
- [0303] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0304] 나. 온도(°C) 28°C에서 7일간 배양
- [0305] 3. 배지
- [0306] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0307] (2) pH : 7.0
- [0308] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0309] 4. 배양조건
- [0310] 가. 호기성, 혐기성 : 호기성
- [0311] 나. 온도(°C) 28°C
- [0312] 다. 진탕, 정치(액체, 고체) 구분없이 사용가능
- [0313] 5. 보존조건
- [0314] 온도(°C) -70°C
- [0315] <미생물 9>
- [0316] 1. 미생물의 명칭 : HKMC-9
- [0317] 속명 : *Pseudomonas*

- [0318] 종 명 : *nitroreducens*
- [0319] 기탁번호: KCCM11333P (2012.11.14)
- [0320] 2. 복원조건
- [0321] 가. 복원제
- [0322] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0323] (2) pH : 7.0
- [0324] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0325] 나. 온도(°C) 28°C에서 7일간 배양
- [0326] 3. 배지
- [0327] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0328] (2) pH : 7.0
- [0329] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0330] 4. 배양조건
- [0331] 가. 호기성, 혐기성 : 호기성
- [0332] 나. 온도(°C) 28°C
- [0333] 다. 진탕, 정치(액체, 고체) 구분없이 사용가능
- [0334] 5. 보존조건
- [0335] 온도(°C) -70°C
- [0336] <미생물 10>
- [0337] 1. 미생물의 명칭 : HKMC-10
- [0338] 속 명 : *Sphingomonas*
- [0339] 종 명 : *aquatilis*
- [0340] 기탁번호: KCCM11334P (2012.11.14)
- [0341] 2. 복원조건
- [0342] 가. 복원제
- [0343] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0344] (2) pH : 7.0
- [0345] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0346] 나. 온도(°C) 28°C에서 7일간 배양
- [0347] 3. 배지
- [0348] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0349] (2) pH : 7.0
- [0350] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0351] 4. 배양조건

- [0352] 가. 호기성, 혐기성 : 호기성
- [0353] 나. 온도(°C) 28°C
- [0354] 다. 진탕, 정치(액체, 고체) 구분없이 사용가능
- [0355] 5. 보존조건
- [0356] 온도(°C) -70°C
- [0357] <미생물 11>
- [0358] 1. 미생물의 명칭 : HKMC-11
- [0359] 속명 : *Methylobacterium*
- [0360] 종명 : *komagatae*
- [0361] 기탁번호: KCCM11335P (2012.11.14)
- [0362] 2. 복원조건
- [0363] 가. 복원제
- [0364] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0365] (2) pH : 7.0
- [0366] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0367] 나. 온도(°C) 28°C에서 7일간 배양
- [0368] 3. 배지
- [0369] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0370] (2) pH : 7.0
- [0371] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0372] 4. 배양조건
- [0373] 가. 호기성, 혐기성 : 호기성
- [0374] 나. 온도(°C) 28°C
- [0375] 다. 진탕, 정치(액체, 고체) 구분없이 사용가능
- [0376] 5. 보존조건
- [0377] 온도(°C) -70°C
- [0378] <미생물 12>
- [0379] 1. 미생물의 명칭 : HKMC-12
- [0380] 속명 : *Deinococcus*
- [0381] 종명 : *apachensis*
- [0382] 기탁번호: KCCM11499P (2013.12.10)
- [0383] 2. 복원조건
- [0384] 가. 복원제
- [0385] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0386] (2) pH : 7.0

- [0387] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0388] 나. 온도(°C) 28°C에서 7일간 배양
- [0389] 3. 배지
- [0390] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0391] (2) pH : 7.0
- [0392] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0393] 4. 배양조건
- [0394] 가. 호기성, 혐기성 : 호기성
- [0395] 나. 온도(°C) 28°C
- [0396] 다. 진탕, 정치(액체, 고체) 구분없이 사용가능
- [0397] 5. 보존조건
- [0398] 온도(°C) -70°C
- [0399] <미생물 13>
- [0400] 1. 미생물의 명칭 : HKMC-13
- [0401] 속명 : *Flavobacterium*
- [0402] 종명 : *oceanosedimentum*
- [0403] 기탁번호: KCCM11500P (2013.12.10)
- [0404] 2. 복원조건
- [0405] 가. 복원제
- [0406] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0407] (2) pH : 7.0
- [0408] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0409] 나. 온도(°C) 28°C에서 7일간 배양
- [0410] 3. 배지
- [0411] (1) 조성 : PTYG medium (1 L 당 Peptone 0.25 g, Triptone 0.25 g, Yeast extract 0.5 g, Glucose 0.5 g, MgSO₄ 30 mg, CaCl₂ 3 mg) 또는 R2A medium.
- [0412] (2) pH : 7.0
- [0413] (3) 살균조건 : 121°C에서 20분
- [0414] 4. 배양조건
- [0415] 가. 호기성, 혐기성 : 호기성
- [0416] 나. 온도(°C) 28°C
- [0417] 다. 진탕, 정치(액체, 고체) 구분없이 사용가능
- [0418] 5. 보존조건
- [0419] 온도(°C) -70°C
- [0420]
- [0421] 실시예 8 : 분리한 미생물의 알루미늄 편에서의 관능 평가

[0422] (1) 영양배지에서 배양

[0423] 상기 실시예 7로부터 동정한 미생물 중 11종의 관능적 특성분석을 위하여 미생물을 분리한 영양배지에서 7일간 28°C 에서 배양한 후 평가를 실시하였다. 하기에 박테리아를 영양배지에서 배양하는 과정을 기술하였다.

[0424] ① 순수분리배양 된 미생물을 액체영양배지에 접종한다.

[0425] ② 접종된 배지를 28°C 에서 5-7일간 배양한다.

[0426] ③ 고체영양배지에 액체배지에서 배양된 균체를 100 μ l 취하여 접종한다.

[0427] ④ 접종한 균체를 spreader를 이용하여 골고루 퍼지게 한다.

[0428] ⑤ 패트리디쉬를 밀봉하여 28°C 에서 10일간 배양한다.

[0429]

[0430] (2) 알루미늄 핀 배지에서의 관능 평가

[0431] 사각형 크기의 알루미늄 핀을 멸균 처리하였고, 이를 먼지 및 영양 배지에 Dipping 시켰다. 이 후 박테리아를 접종하여 상기 영양배지에서의 단계 ② - ④에 기재된 조건과 동일하게 하여 배양시킨 후 평가를 실시하였고 이를 하기 표 8에 관능 평가 결과를 기재하였다.

[0432] ① 항균제가 처리된 알루미늄 핀: 에바코어의 주재료인 알루미늄위에 항균 코팅까지 한 것으로 양산되는 시중에서 구매가 충분히 가능한 에바코어 완제품의 코팅이다.

[0433] ② 항균제 처리가 되지 않은 친수코팅처리만 된 알루미늄 핀: 에바코어의 코팅 공정 중 친수 공정 만을 거친 알루미늄 핀이다. 보통은 친수 공정과 항균공정이 동시에 이루어진다. 항균성 코팅핀과 항균성이 없는 코팅핀을 비교하기 위해 특별히 제작한 것이다. 에바코어는 경량화를 위해 알루미늄 핀으로 제작되지만 동 재질steel 재질 등 다양한 금속으로도 제조가 가능하다.

[0434]

[Table 8]

NO.	항균제 핀	무항균제 핀	균주
1	무취	무취	<i>Methylobacterium aquaticum</i> HKMC-1
2	무취	무취	<i>Methylobacterium brachiatum</i> HKMC-2
3	무취	무취	<i>Methylobacterium platani</i> HKMC-3
4	무취	무취	<i>Acinetobacter johnsonii</i> HKMC-4
5	무취	무취	<i>Bacillus vietnamensis</i> HKMC-5
6	무취	무취	<i>Brevibacillus invocatus</i> HKMC-6
7	무취	무취	<i>Deinococcus ficus</i> HKMC-7
8	무취	무취	<i>Leifsonia soli</i> HKMC-8
9	무취	무취	<i>Pseudomonas nitroreducens</i> HKMC-9
10	무취	무취	<i>Sphingomonas aquatilis</i> HKMC-10
11	무취	무취	<i>Methylobacterium komagatae</i> HKMC-11

[0435]

[0436] 알루미늄 항균제 핀 및 무항균제 핀에서 모두 상기 11종의 미생물을 접종하여 배양한 결과 모두 무취인 결과가 나타났다.

[0437]

[0438] **실시예 9 : 무취 미생물의 최적 부착조건 평가**

[0439] (1) 무취 미생물의 **fin** 부착 최적농도 분석

[0440] 상기 11종의 무취 미생물의 에바코어 코팅을 위하여 2012년 연구결과(우선출원)와 같이 10^6 cfu/g 수준으로 접종하기 위한 부착 적정농도를 확인하였다. 농도확인 시험은 공통 균주 중 하나인 *Methylobacterium aquaticum* 을 사용 하였으며, 28°C에서 late log phase까지 배양 후 멸균된 0.85% saline으로 wash 후 4°C에서 18시간 배양하였다. 4°C에서 배양 후 O.D.(optical density)를 0.749, 0.588, 0.55, 0.5, 0.45로 적정한 후 2g의 u자형 fin을 담귀 1시간 동안 실온에서 일정 rpm으로 shaking하며 부착하였다. 이렇게 각각의 농도의 미생물이 부착된 fin은 mixer를 통해 탈리 된 후 R2A agar plate에 serial dilution 되어 평판 도말하였다.

[0441] 이러한 평판 도말 결과, O.D. 수치에 따라서 fin에 부착되는 미생물의 농도가 변화 함을 확인 할 수 있었다. O.D. 0.749의 경우 $1.53 \times 10^8 \pm 1.52 \times 10^7$ cfu/g fin의 부착 정도를 나타내었으며, O.D. 0.588과 0.55는 각각 $4.00 \times 10^7 \pm 1.00 \times 10^7$ cfu/g fin, $1.03 \times 10^7 \pm 8.50 \times 10^5$ cfu/g fin의 부착 정도를 나타내었다. 추가적으로 O.D. 0.5와 O.D 0.45의 경우 $6.00 \times 10^6 \pm 7.00 \times 10^5$ cfu/g fin, $2.53 \times 10^6 \pm 3.51 \times 10^5$ cfu/g fin의 부착도를 나타내며 O.D.에 따른 부착 정도는 비례관계를 나타냄을 확인할

수 있었다. 이들 부착농도 중 미생물이 분리된 에바코어가 가지고 있던 10^6 cfu/g 수준의 미생물을 코팅하는 O.D.값인 0.5를 사용하여 다른 10종의 무취 미생물을 코팅하였다.

[0442]

[0443] (2) 무취 미생물의 에바코어 및 fin 부착성 확인

[0444] 상기 fin 부착실험 결과 genus와 상관없이 11종의 무취 미생물은 동일 O.D.에서 동일한 부착 정도는 나타냄을 확인하였다. 따라서, 균주 중 하나인 *Methylobacteriumaquaticum* 을 사용하여 fin과 동일한 O.D.의 배양액을 사용하여 에바코어에 부착되는 미생물의 양을 확인하였다.

[0445] O.D. 0.5로 적정된 *Methylobacteriumaquaticum*은 에바코어에서 $8.95 \times 10^6 \pm 5.51 \times 10^5$ cfu/ g fin의 부착 정도를 나타내었다. 이와 같이 동일한 배양액을 사용하여 부착한 에바코어의 경우 $2.55 \times 10^6 \pm 3.51 \times 10^5$ cfu/ g fin의 부착 정도를 나타내었다. 이 같은 결과를 통하여 동일한 O.D. 의 배양액을 사용할 경우 같은 수준의 미생물이 부착됨을 확인 할 수 있다.

[0446]

[0447] 실시예 10 : 분리한 미생물의 에바코어 부착 시 관능 평가

[0448] (1) 11종의 단일 무취미생물의 에바코어 부착 및 관능평가

[0449] 상기 실시예 8로부터 동정한 미생물의 관능적 특성분석을 위하여 11종의 무취미생물 각각을 에바코어에 부착하여 관능평가를 실시하였다.

[0450] 이러한 조건에서 각 미생물에 대한 냄새평가 실험을 통하여 각 미생물의 악취 발생 정도를 분석하였다. 미생물이 부착된 에바코어는 15명 이상의 관능평가 요원에 의하여 평가되었으며, 그 결과 11종의 미생물에서 1.78 ± 0.41 의 평균관능결과를 나타내었다 (5점 평점법)(0: 냄새 없음; 1: 아주 약한 냄새(감지하기 어려운 냄새); 2: 약한 냄새(종류 구분이 어려운 냄새); 3: 냄새(종류 구분이 가능한 냄새); 4: 강한 냄새 및 5: 매우 강한 냄새). 이들 중 *Methylobacterium* sp. 는 1.625 ± 0.29 의 수치를 나타내며 평균보다 낮은 관능평가결과를 나타내었으며, 공통 균주 3종(*Methylobacterium aquaticum*, *Methylobacterium brachiatum* 및 *Methylobacterium platani*)의 경우 1.6 ± 0.35 의 수치를 나타내었다. 관능평가 결과 가장 높은 점수를 받은 단일 균주는 *Deinococcusficus*로 2.8점을 보였으며, 그 다음으로는 *Bacillus vietnamensis*가 2.1점으로 높은 관능평가 결과를 보였다 (표 8).

[0451] 이들 관능평가결과를 바탕으로 하여 냄새발생 정도가 비교적 높은 3종의 미생물을 조합 균주에서 배제하였으며, 배제된 균주는 *Methylobacterium brachiatum*, *Bacillus vietnamensis*, *Deinococcusficus* 로 결정되었다.

[0452]

[Table 9]

에바코어에 부착된 단일 균주 관능평가

NO.	Strain	공기 중 냄새	재현조건 * 냄새	평가결과 (5점 만점)	선정결 과
1	<i>Methylobacterium aquaticum</i>	무취	무취	1.4	선정
2	<i>Methylobacterium brachiatum</i>	무취	X	2	-
3	<i>Methylobacterium platani</i>	무취	무취	1.4	선정
4	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	무취	무취	1.5	선정
5	<i>Bacillus vietnamensis</i>	무취	X	2.1	-
6	<i>Brevibacillus invocatus</i>	무취	무취	1.5	선정
7	<i>Deinococcus ficus</i>	무취	X	2.8	-
8	<i>Leifsonia soli</i>	무취	무취	1.7	선정
9	<i>Pseudomonas nitroreducens</i>	무취	무취	1.6	선정
10	<i>Sphingomonas aquatilis</i>	무취	무취	1.6	선정
11	<i>Methylobacterium komagatae</i>	무취	무취	1.7	선정
기준	Control (멸균된 에바코어)	-	-	2.1	

[0453]

[0454] 재현조건*: Step 1: 휘발유(미생물의 먹이) 투입 후 2시간 재현기 가동(온도: 25 °C, 습도: 50% ~ 90%, 풍속: 170 CMH, 먹이 주입: 휘발유 10 ppm)

[0455] Step 2: 2시간 재현기를 멈춘 후(온도: 25°C, 습도: 30% ~ 50%, 풍속: 0 CMH, 재현기의 입구를 조금 열어 냄새 평가)

[0456]

[0457] (2) 무취 미생물 조합의 관능평가

[0458] 상기 단일 미생물 관능평가에서 선별된 8종의 무취 미생물을 2종의 공통 균주(*Methylobacterium aquaticum* 및 *Methylobacterium platani*)와 조합하여 최적의 무취조합을 14조합 확보하였다. 선별된 무취조합의 실제적인 관능평가를 위해 조합미생물을 동일한 밀도 수준으로 혼합한 후 에바코어에 부착시킨 후 관능평가를 진행하였다.

[0459] 냄새평가 결과, 14조합의 평균 관능평가 수치는 1.89 ± 0.52 (5점 만점)였으며, 공통 균주를 포함 *Acinetobacter johnsonii*와 *Sphingomonas aquatilis* 그리고 *Pseudomonas nitroreducens*를 포함한 14번째 조합이 1.25로 가장 낮은 관능평가 점수를 나타내었으며, 공통 균주를 포함한 *Acinetobacter johnsonii* 조합이 3.14로 가장 높은 관능점수를 나타내었다(표 10). 이러한 수치적 평가와 더불어 냄새의 질에 대한 평가를 포함하여 공통 균주와 함께 *Acinetobacter johnsonii*, *Brevibacillus*

invocatus가 단독으로 포함된 2가지의 3균주 조합과 *Brevibacillus invocatus*, *Sphingomonas aquatilis*, *Methylobacterium komagatae* 3균주가 조합 균주로 포함된 7번 조합과 *Leifsonia soli*, *Sphingomonas aquatilis*, *Pseudomonas nitroreducens*가 포함된 13번 조합을 제외한 10개의 조합이 최종 생존경쟁실험을 위하여 선정되었다.

[0460] [Table 10]

무취미생물 조합의 관능평가

No.	조합	냄새 평가	결과
1	공동 균주 2종 (<i>Methylobacterium aquaticum</i> 및 <i>Methylobacterium platani</i>)	1.98	선정
2	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	3.14	X
3	<i>Brevibacillus invocatus</i>	2.12	X
4	<i>Sphingomonas aquatilis</i> 및 <i>Brevibacillus invocatus</i>	1.38	선정
5	<i>Leifsonia soli</i> 및 <i>Methylobacterium komagatae</i>	1.38	선정
6	<i>Acinetobacter johnsonii</i> , <i>Sphingomonas aquatilis</i> 및 <i>Methylobacterium komagatae</i>	1.33	선정
7	<i>Brevibacillus invocatus</i> , <i>Sphingomonas aquatilis</i> 및 <i>Methylobacterium komagatae</i>	2.33	X
8	<i>Pseudomonas nitroreducens</i>	2.13	선정
9	<i>Acinetobacter johnsonii</i> 및 <i>Pseudomonas nitroreducens</i>	2	선정
10	<i>Brevibacillus invocatus</i> , <i>Acinetobacter johnsonii</i> 및 <i>Pseudomonas nitroreducens</i>	1.5	선정
11	<i>Leifsonia soli</i> 및 <i>Pseudomonas nitroreducens</i>	1.86	선정
12	<i>Brevibacillus invocatus</i> , <i>Sphingomonas aquatilis</i> 및 <i>Pseudomonas nitroreducens</i>	1.7	선정
13	<i>Leifsonia soli</i> , <i>Sphingomonas aquatilis</i> 및 <i>Pseudomonas nitroreducens</i>	2.38	X
14	<i>Acinetobacter johnsonii</i> , <i>Sphingomonas aquatilis</i> 및 <i>Pseudomonas nitroreducens</i>	1.25	선정

[0461]

[0462] 실시예 11 : 10 개 조합의 30 일 생존평가

[0463] 상기 실시예 9-(2)의 관능평가결과 10개의 미생물 조합이 무취조합으로써 선별되었으며, 해당 미생물을 대상으로 30일간의 생존평가를 수행하였다.

코팅조합으로 사용된 미생물의 조합번호 및 미생물 리스트는 다음과 같다 (표 11).

[0464] [Table 11]

30일 생존평가 조합 및 사용 미생물

No.	조합
1	<i>Methylobacterium aquaticum</i> , <i>Methylobacterium platani</i> , <i>Brevibacillus invocatus</i> , <i>Sphingomonas aquatilis</i> 및 <i>Pseudomonas nitroreducens</i>
2	<i>Methylobacterium aquaticum</i> , <i>Methylobacterium platani</i> , <i>Acinetobacter johnsonii</i> , <i>Sphingomonas aquatilis</i> 및 <i>Pseudomonas nitroreducens</i>
3	<i>Methylobacterium aquaticum</i> , <i>Methylobacterium platani</i> , <i>Acinetobacter johnsonii</i> , <i>Sphingomonas aquatilis</i> 및 <i>Methylobacterium komagatae</i>
4	<i>Methylobacterium aquaticum</i> , <i>Methylobacterium platani</i> , <i>Brevibacillus invocatus</i> , <i>Acinetobacter johnsonii</i> 및 <i>Pseudomonas nitroreducens</i>
5	<i>Methylobacterium aquaticum</i> , <i>Methylobacterium platani</i> , <i>Acinetobacter johnsonii</i> 및 <i>Pseudomonas nitroreducens</i>
6	<i>Methylobacterium aquaticum</i> , <i>Methylobacterium platani</i> , <i>Leifsonia soli</i> 및 <i>Pseudomonas nitroreducens</i>
7	<i>Methylobacterium aquaticum</i> , <i>Methylobacterium platani</i> , <i>Leifsonia soli</i> 및 <i>Methylobacterium komagatae</i>
8	<i>Methylobacterium aquaticum</i> , <i>Methylobacterium platani</i> , <i>Sphingomonas aquatilis</i> 및 <i>Brevibacillus invocatus</i>
9	<i>Methylobacterium aquaticum</i> , <i>Methylobacterium platani</i> 및 <i>Pseudomonas nitroreducens</i>
10	<i>Methylobacterium aquaticum</i> 및 <i>Methylobacterium platani</i>

[0465]

[0466] 배양과 에바코어 코팅의 순서에 따라서 1번 조합부터 10번까지의 순서로 진행되었으며, 각각의 코팅은 10^6 cfu/g fin 수준으로 진행 되었다.

[0467]

[0468] 1번 조합은 에바코어에서 $1.09 \times 10^7 \pm 8.65 \times 10^5$ cfu/g fin 의 코팅수준을 나타내었으며, 표현형을 보았을 때, 붉은색 colony가 $8.70 \times 10^6 \pm 2.35 \times 10^6$ cfu/g fin, 흰색 colony가 $2.50 \times 10^5 \pm 7.07 \times 10^4$ cfu/g fin, 노란색 colony가 $1.90 \times 10^6 \pm 1.73 \times 10^5$ cfu/g fin 수준으로 검출되었다. 30일 경과 후에는 $4.63 \times 10^5 \pm 5.09 \times 10^4$ cfu/g fin 수준의 총세균수를 나타내었으며, 붉은색 colony만이 $4.63 \times 10^6 \pm 1.53 \times 10^5$ cfu/g fin 수준으로 확인 되었다 (도 2). 이는 비율상으로 확인하였을 때, 붉은색 colony가 80% 이상을 차지하며, 30일경과 후에는 100%를 차지한다는

것을 확인 할 수 있다 (도 3). 상기 표현형 상으로 보았을 때, 붉은색 colony는 pink pigmentation을 가지고 있는 *Methylobacterium*을 포함할 것으로 의심되었다. REP-PCR을 통한 조합미생물의 비율을 확인하여 본 결과 Time 0에서 *Methylobacteriumaquaticum*, *Sphingomonasaquatilis* 및 *Pseudomonas nitroreducens*를 제외한 *Methylobacteriumplatani* 및 *Brevibacillusinvocatus*를 확인 할 수 없었으며, 특히 공통미생물로 사용한 *Methylobacteriumplatani*가 검출되지 않았다. 1번 조합의 time 0에서는 총 86개의 REP-PCR 샘플 중 *Methylobacteriumaquaticum*이 70개 검출되어 가장 많이 검출되었으며, *Sphingomonasaquatilis*가 12개, *Pseudomonas nitroreducens*가 4개로 각각 검출되었다. Time 30일에는 총 32개의 샘플 중 *Methylobacteriumaquaticum*이 32개 샘플 모두로 나타나며, 기존 존재하던 미생물이 사멸 등의 이유로 인하여 모두 검출되지 않는 것을 확인 하였다 (도 4).

[0469]

[0470] 2번 조합에 사용된 균주는 공통균주인 *Methylobacteriumaquaticum*과 *Methylobacteriumplatani*를 포함하여 *Acinetobacter johnsonii*, *Sphingomonasaquatilis* 및 *Pseudomonas nitroreducens*가 사용 되었다. Time 0에 에바코어에는 $1.52 \times 10^7 \pm 5.42 \times 10^5$ cfu/g fin 수준의 총 세균이 부착되어 있음이 확인되었고, 30일 경과 후에는 에바코어상에서 $3.23 \times 10^6 \pm 8.39 \times 10^4$ cfu/g fin 수준의 총세균이 생존함이 확인되었다. REP-PCR 패턴분석 결과 time 0 의 에바코어에서 생존한 미생물은 *Methylobacteriumaquaticum*, *Sphingomonasaquatilis* 및 *Pseudomonas nitroreducens*인 것으로 확인 되었으며, 105개의 REP-PCR 샘플 중 *Methylobacteriumaquaticum*이 94개, *Sphingomonasaquatilis*이 7개, *Pseudomonas nitroreducens*가 4개의 샘플에서 확인되었다. 30일 경과 후 확인한 REP-PCR 샘플에서는 30개의 샘플 모두가 *Methylobacteriumaquaticum*으로 확인 되었다 (도 5).

[0471]

[0472] 3번 미생물 조합은 time 0에서 총 세균수가 $1.83 \times 10^7 \pm 3.89 \times 10^5$ cfu/g fin수준으로 부착되어있음을 확인되었고, 이후 30일 경과 후에는 $5.23 \times 10^6 \pm 1.50 \times 10^5$ cfu/g fin수준으로 존재하는 것을 확인 하였다. REP-PCR 분석을 통한 미생물의 개체 수 확인 결과, 조합에 사용된 5개의 미생물 중 *Methylobacterium platani*를 제외한 4종의 미생물인 *Methylobacteriumaquaticum*, *Acinetobacter johnsonii*, *Sphingomonasaquatilis*, *Methylobacteriumkomagatae*가 time 0에 생존해 있는 것을 확인하였으며, 30일 경과 후에도 공통미생물에 하나인 *Methylobacteriumaquaticum*이외에 *Methylobacteriumkomagatae*가 생존하는 것을 확인하였다. Time 0의 미생물의 생존비율은 101개의 샘플 중 *Methylobacterium aquaticum*이 49개, *Acinetobacter johnsonii*이 1개, *Sphingomonasaquatilis*이 11개, *Methylobacteriumkomagatae*이 40개의 비율로 확인 되었으며, 30일 경과 후에는 *Methylobacteriumaquaticum*이 19개, *Methylobacteriumkomagatae*가 15개씩 34개의 샘플에서 검출되었다 (도 6). 이들 비율 중 생존한 *Methylobacterium* 2종의 비율을

시간변화에 따라 살펴보면 30일의 경과와 상관없이 약 1:1의 균질한 비율을 유지하는 것을 확인 할 수 있다 (도 7).

[0473]

[0474] 4번 조합에 사용된 5종의 균주는 부착 당시 $2.04 \times 10^7 \pm 4.91 \times 10^5$ cfu/g fin 수준의 총 세균이 존재하는 것으로 확인되었고, REP-PCR을 통한 각각의 미생물의 개체수를 확인하여 보면, 86개의 대표샘플 중 80개의 샘플이 *Methylobacterium aquaticum*인 것으로 확인되었으며, *Methylobacterium platani*가 1개, *Brevibacillus invocatus*가 3개, *Pseudomonas nitroreducens*가 2개로 검출되었다 (도 8).

[0475]

[0476] 5번 조합은 *Methylobacterium aquaticum*, *Methylobacterium platani*, *Acinetobacter johnsonii* 및 *Pseudomonas nitroreducens*의 4개 균주로 이루어져 있으며, 초기 에바코어 부착 시 $2.86 \times 10^7 \pm 1.19 \times 10^6$ cfu/g fin 수준의 총 세균이 부착된 것으로 확인 되었고, REP-PCR을 통하여 생존 미생물의 동정을 수행한 결과 28개의 대표샘플 중 *Methylobacterium aquaticum*이 24개, *Acinetobacter johnsonii* 및 *Pseudomonas nitroreducens*가 각각 2개씩 포함되어 있었다 (도 9).

[0477] 지금까지 수행한 미생물 조합의 30일 생존 평가를 통하여 공통세균으로 사용한 *Methylobacterium platani*가 미생물 조합으로 에바코어코팅에 사용시 생존력이 낮음을 확인하였으며, 이를 대신하여 30일까지 공통 균주인 *Methylobacterium aquaticum*과 유사한 생존성을 보인 *Methylobacterium komagatae*를 사용한 추가적인 미생물 조합을 제작, 30일의 생존성 평가를 수행하기로 하였다.

[0478]

[0479] **실시예 12 : 추가 6 개 조합의 30 일 생존평가**

[0480] 30일 생존평가에서 확인된 *Methylobacterium platani*의 약한 생존력을 대체할 미생물로 *Methylobacterium komagatae*를 선정하였으며, 이를 공통 균주인 *Methylobacterium aquaticum*과 혼합하여 사용할 추가 미생물 조합을 6개 추가 선정하였다 (표 12). 추가 선정된 미생물은 관능적으로 무취에 포함되지 않는 다 하여도 생존성이 뛰어난 미생물을 소수 포함하였으며, 이를 통하여 더욱 견고한 미생물조합을 제작 검출 하고자 하였다.

[0481]

[Table 12]

30일 추가 생존평가 조합 및 사용 미생물

	조합
A	<i>Methylobacterium aquaticum</i> , <i>Methylobacterium komagatae</i> , <i>Bacillus vietnamensis</i> 및 <i>Deinococcus ficus</i>
B	<i>Methylobacterium aquaticum</i> , <i>Methylobacterium komagatae</i> , <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> , <i>Deinococcus apachensis</i> 및 <i>Bacillus subtilis subsp. Subtilis</i>
C	<i>Methylobacterium aquaticum</i> , <i>Methylobacterium komagatae</i> , <i>Spirosoma linguale</i> , <i>Sphingomonas dokdonensis</i> 및 <i>Leifsonia soli</i>
D	<i>Methylobacterium aquaticum</i> , <i>Methylobacterium komagatae</i> , <i>Microbacterium flavescens</i> , <i>Leifsonia shinshuensis</i> 및 <i>Methylobacterium aerolatum</i>
E	<i>Methylobacterium aquaticum</i> , <i>Methylobacterium komagatae</i> , <i>Spirosoma panaciterrae</i> , <i>Flavobacterium oceanosedimentum</i> 및 <i>Brevundimonas kwangchunensis</i>
F	<i>Methylobacterium aquaticum</i> , <i>Methylobacterium komagatae</i> , <i>Methylobacterium brachiatum</i> , <i>Paenibacillus timonensis</i> 및 <i>Rhizobium massiliae</i> , <i>Bacillus licheniformis</i>

[0482]

[0483] A조합은 에바코어에 코팅 당시 $4.30 \times 10^6 \pm 1.25 \times 10^6$ cfu/g fin 수준의 생균이 부착되어 있음을 확인하였고, 30일 경과 후에도 $4.30 \times 10^6 \pm 1.25 \times 10^6$ cfu/g fin 수준의 생존이 존재하는 것을 확인하였다. REP-PCR 패턴분석을 통하여 부착된 미생물의 균집구조를 확인 한 결과, time 0에서는 표본인 45개의 샘플 중 8개 샘플이 *Methylobacterium aquaticum*으로 확인되었으며, 37개의 샘플이 *Methylobacterium komagatae* 인 것으로 확인 되었다. 30일 경과 후에는 20개의 샘플 중 5개의 샘플이 *Methylobacterium aquaticum*, 15개의 샘플이 *Methylobacterium komagatae*인 것으로 확인되어 *Methylobacterium aquaticum*의 비율이 다소 증가 하였으나 유의미한 차이는 없는 것으로 확인 되었다 (도 10).

[0484]

[0485] B조합의 경우 $2.07 \times 10^7 \pm 1.11 \times 10^6$ cfu/g fin 수준의 총 세균이 time 0에서 확인되었고, 30일 경과 후에는 $1.74 \times 10^7 \pm 1.30 \times 10^6$ cfu/g fin 수준으로 검출되었다. REP-PCR을 통한 개체 수 확인 결과 time 0의 B조합은 34개의 대표샘플 중 1개가 *Methylobacterium aquaticum*으로 확인 되었으며, *Methylobacterium komagatae*는 11개의 샘플이 확인되었다. 또한, 나머지 22개의 샘플은 모두 *Deinococcus apachensis*으로 확인 되어 부착되어 있는 미생물의 40% 이상이 *Deinococcus apachensis*임을 확인하였다 (도 11). 30일 경과 후 REP-PCR

패턴의 분석결과 미생물들은 *Methylobacterium aquaticum*이 11.1%, *Methylobacterium komagatae*는 22.2%, *Deinococcus apachensis*는 66.6%의 비율로 생존하는 것을 확인하였으며, 이는 *Methylobacterium aquaticum*의 비율이 time 0에 비하여 소량 증가하였으나 3개의 미생물이 모두 생존함을 나타낸다.

[0486]

[0487] C조합에서는 *Methylobacterium aquaticum*, *Methylobacterium komagatae*, *Spirosoma linguale*, *Sphingomonas dokdonensis* 및 *Leifsonia soli*가 사용되었으며, 5개의 균주를 혼합하여 에바코어에 부착시 $7.53 \times 10^6 \pm 3.74 \times 10^5$ cfu/g fin 수준의 총 세균이 확인 되었고, 이들 미생물은 30일 경과 후 총 세균 수가 $3.70 \times 10^6 \pm 1.37 \times 10^5$ cfu/g fin 수준으로 확인되었다.

[0488] 이렇게 생존한 미생물의 동정을 위하여 REP-PCR을 통한 패턴분석을 수행한 결과 time 0의 51개의 대표 샘플 중 4개가 *Methylobacterium aquaticum*, 30개가 *Methylobacterium komagatae*로 나타났으며, 3개가 *Spirosoma linguale*, 14개가 *Sphingomonas dokdonensis*로 나타났다. 30일 경과후에는 *Methylobacterium aquaticum* 29.6%, *Methylobacterium komagatae*가 59.2%로 *Methylobacterium aquaticum*의 비율이 소폭 상승한 것으로 확인 되었으며, *Spirosoma linguale*의 검출 없이, *Sphingomonas dokdonensis*가 11.1%로 time 0에 비하여 그 비율이 감소하는 경향을 보였다 (도 12).

[0489]

[0490] D조합의 Time 0 총 세균수는 $1.75 \times 10^7 \pm 1.24 \times 10^6$ cfu/g fin으로 부착되어 있음이 확인 되었고, 30일 경과 후에는 총 세균이 $6.03 \times 10^6 \pm 1.01 \times 10^6$ cfu/g fin으로 배양되었다. REP-PCR에 의한 각 균의 비율을 확인 한 결과 time 0에서는 *Methylobacterium aquaticum*이 16.3%, *Methylobacterium komagatae*는 47.3%, *Microbacterium flavescens*는 36.4%로 나타났다. 30일 경과 후에는 *Methylobacterium aquaticum*이 34.3%로 증가했으며, *Methylobacterium komagatae* 또한 57.1%로 소량 증가하였다. 하지만 *Microbacterium flavescens*는 8.6%로 다른 미생물에 비하여 그 수가 감소하는 경향을 보였다 (도 13).

[0491]

[0492] E조합은 $8.53 \times 10^6 \pm 3.21 \times 10^5$ cfu/g fin의 총 세균이 배양학적 방법을 통하여 검출 되었고, 30일 경과 후 배양 된 총 세균수는 $1.20 \times 10^6 \pm 3.84 \times 10^4$ cfu/g fin이었다. REP-PCR을 통한 각각의 개체 수 확인 결과 time 0의 샘플의 75개 대표값 중 8개가 *Methylobacterium aquaticum*, 21개가 *Methylobacterium komagatae*, 32개가 *Flavobacterium oceanosedimentum*, 마지막으로 14개가 *Brevundimonas kwangchunensis*에 해당함을 보였다. 30일 경과 후에는 총 89개의 대표샘플중 *Methylobacterium aquaticum*이 16개, *Methylobacterium komagatae*가 32개, *Flavobacterium oceanosedimentum* 39개, *Brevundimonas kwangchunensis*가 2개로 각각 나타났다 (도 14).

[0493] 이를 통하여 time 0 부착 시 *Spirosoma panaciterrae*는 검출할 수 없는 매우 적은

수가 부착되어 생존하거나 거의 부착되지 않음을 확인하였으며, *Brevundimonas kwangchunensis*는 초기에 비하여 생존하는 미생물의 비율이 크게 감소하는 경향을 보임을 확인할 수 있었다.

[0494]

[0495] F조합은 2개의 *Methylobacterium* sp. 공통 균주를 포함하여 총 6개의 균주가 조합되었으며, Time 0의 부착상황에서 $1.60 \times 10^7 \pm 1.15 \times 10^6$ cfu/g fin 수준의 박테리아가 배양학적 방법을 통하여 검출되었고, 30일이 지난 후 확인한 총세균의 수는 $9.03 \times 10^6 \pm 2.42 \times 10^5$ cfu/g fin 의 수치를 나타내었다. REP-PCR 패턴분석을 통한 균주의 균집구조분석 결과 time 0의 71개의 대표 샘플 중 54개가 *Methylobacterium aquaticum*, 17개가 *Methylobacterium komagatae*로 나타났으며, 30일 후 샘플에서는 73개 중 50개가 *Methylobacterium aquaticum*, 23개가 *Methylobacterium komagatae*로 나타났다 (도 15).

[0496]

[0497] **실시예 13 : 공통균주 조합의 90 일 생존평가**

[0498] 무취 미생물 조합의 90일간의 장기 영향 평가를 위하여 다양한 조합을 구성하였으며, 우선 모든 조합의 공통으로 사용되는 *Methylobacterium aquaticum* 과 *Methylobacterium komagatae*으로 구성되는 균집에 대하여 90일간의 장기 평가를 수행하였다.

[0499]

두 개의 *Methylobacterium* sp. 균주를 에바코어에 코팅한 time 0에 샘플에서 배양한 총 세균의 수를 배양학적인 방법을 통하여 분석한 결과 $1.92 \times 10^7 \pm 8.02 \times 10^5$ cfu/g fin 수준으로 존재함을 확인 하였다. 이후 30일 마다 5g의 fin을 취하여 총 세균수를 측정하였으며, 30일이 경과 후 $8.70 \times 10^6 \pm 6.56 \times 10^5$ cfu/g fin 수준의 박테리아가, 60일 및 90일 경과 후 $4.10 \times 10^6 \pm 3.00 \times 10^5$ cfu/g fin, $3.13 \times 10^6 \pm 5.51 \times 10^5$ cfu/g fin 수준의 박테리아가 생존함을 확인 하였다 (도 16). 각각의 샘플링 위치 별로 71, 66, 41, 44개의 대표 샘플을 선별하여 해당 colony의 REP-PCR 패턴을 분석한 결과, time 0에서는 *Methylobacterium aquaticum*과 *Methylobacterium komagatae*가 각각 37개, 34개씩 검출되었으며, 30일에는 35개 31개, 60일에는 27개 14개, 마지막 90일에는 25개 19개로 확인되었다 (도 17). 이수치는 % 비율로 볼 때, *Methylobacterium aquaticum*이 52.1~65.8% 수준으로 검출됨을 나타내며, *Methylobacterium komagatae*의 경우 34.1~47.9%의 범위 안에서 존재함을 나타낸다. 이러한 균질한 비율의 두 균주의 공존은 장기적인 생존에 있어 두 균주의 균집이 적합함을 보여준다.

[0500]

[0501] **실시예 14 : 공통 균주 조합의 자동차 지그 상에서의 생존평가**

[0502] 공통 균주 *Methylobacterium aquaticum* 및 *Methylobacterium komagatae*조합이 외부의 조건에서 얼마만큼 성장하는지를 살펴보기 위하여 두 균주를 사용하여 에바코어를 코팅 후, 자동차 지붕에 설치하는 지그에 에바코어를 장착, 운행하여 외부 공기에 노출된 코팅 균주의 변화를 확인하여 보았다.

[0503] 두 균주를 이용하여 코팅한 에바코어에서는 $3.20 \times 10^7 \pm 6.56 \times 10^6$ cfu/g fin 수준의 총 세균이 확인 되었으며, 30일 경과 후에는 $6.23 \times 10^6 \pm 1.99 \times 10^5$ cfu/g fin, 60일 경과 후에는 $1.08 \times 10^6 \pm 4.36 \times 10^4$ cfu/g fin 수준으로 에바코어 상에 미생물이 존재하는 것으로 확인 되었다 (도 18). 하지만 외부 환경에 노출되었음에도 불구하고 *Methylobacterium* sp.의 colony 이외의 외부 미생물은 60일 경과 후 배양학적인 방법을 통해서도 검출되지 않았다. 검출된 미생물에 대하여 REP-PCR을 통한 균주 동정 결과 time 0에서는 1:1의 균주 구성비율을 나타내었으며, 30일 경과 후 *Methylobacterium aquaticum*이 4.2% 수준으로 감소하였으며, 60일 이후에는 확인되는 모든 세균이 *Methylobacterium komagatae*로 나타났다 (도 19).

[0504]

[0505] 결론

[0506] 에바코어에서 분리 배양된 무취 미생물 11종을 형태학적 특성을 통하여 4종류로 구분하였으며, 분자생물학적 동정방법인 16S rDNA sequencing 방법에 따라 재 분류한 결과 미생물 11점이 각각 다른 종임을 재확인하였다.

[0507] 16S rDNA로 분류, 동정 된 미생물은 REP-PCR 방법으로 균주의 중복성을 조사한 결과 11 종류의 서로 다른 REP-PCR group이 확인되었고, 이들 균주를 REP-PCR group방법으로 구분 가능한 서로 다른 균주로 최종 확인되었다.

[0508] 단일 균주를 대상으로 미생물 부착 에바코어의 관능평가 결과, 비교적 악취 발생 정도가 낮은 *Methylobacterium aquaticum*, *Methylobacterium platani*, *Acinetobacter johnsonii*, *Brevibacillus invocatus*, *Leifsoniasoli*, *Pseudomonas nitroreducens*, *Sphingomonas aquatilis* 및 *Methylobacterium komagatae* 8종의 미생물을 최종적으로 선별하였다.

[0509] 선별된 8종의 미생물을 통하여 결정된 14가지의 조합에 대하여 부착 및 관능평가를 실시한 결과 공통 균주 2종을 포함하여, 5개의 균주가 포함된 4개 조합, 4개의 균주가 포함된 4개 조합, 3개 균주가 포함된 1개 조합 그리고 2개 균주가 포함된 1개 조합 등 10개 조합이 최종 생존경쟁실험 대상 조합으로 선정되었다. 하지만 *Methylobacterium platani*의 조합 부적합성에 의하여 6개의 추가 조합을 제작하였고 이를 사용한 30일간의 생존성 평가를 통해 *Methylobacterium aquaticum*, *Methylobacterium komagatae*를 기본 균주로 하는 조합을 확인 하였다. 이중 기본 균주인 *Methylobacterium aquaticum* 및 *Methylobacterium komagatae*만을 포함하는 조합을 대상으로 90일간의 생존 시험을 진행하였으며, 90일간의 실험실 조건에서의 생존결과 부착초기와 비교하여 유사한 미생물군 집의 유지성을 나타내어 지속력을 가지는 경쟁력 있는 조합임을 확인 하였다. 추가적으로 이들 조합이 코팅된 에바코어를 자동차 지붕의 지그에 설치하여 외부공기와 접촉 후 생존성을 평가 한 결과 총세균의 개체 수는 10^6 cfu/ g fin 수준을 유지하는 것으로 확인 되었으며, 외부 미생물의 배양이 확인되지 않았다.

[0510]

[0511] 이상으로 본 발명의 특정한 부분을 상세히 기술하였는바, 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 있어서 이러한 구체적인 기술은 단지 바람직한 구현 예일 뿐이며, 이에 본 발명의 범위가 제한되는 것이 아닌 점은 명백하다. 따라서, 본 발명의 실질적인 범위는 첨부된 청구항과 그의 등가물에 의하여 정의된다고 할 것이다.

[0512]

번역문

특허절차상 미생물기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트조약

국제양식

원기탁에 대한 기탁증

7.1에 의거 발행

기탁자 : 현대자동차주식회사

주소 : 대한민국 서울 서초구 현릉로 12

I. 미생물 분류	
기탁자에 의해 주어진 참조 표시 :	국제 기탁 기관에 의해 주어진 기탁번호 :
<i>Methylobacterium aquaticum</i> HKMC-1	KCCM 11325P
II. 과학적 서술 및/또는 분류학적 명칭	
<p>상기 I에 표시된 미생물과 관련하여 하기를 첨부함:</p> <p><input type="checkbox"/> 과학적 기술</p> <p><input type="checkbox"/> 제안된 분류학적 명명</p> <p>(해당란에 x표시)</p>	
III. 수령 및 승인	
본 국제기탁기관은 2012년 11월 14일에 기탁된 상기 I에 표시된 미생물을 수령한다.	
IV. 국제기탁기관	
<p>명칭 : 한국미생물보존센터(KCCM)</p> <p>주소 : 대한민국 서울시 서대문구 홍제1동 유림 빌딩, 361-221</p>	<p>국제기탁기관을 대표권한을 가진자의 서명</p> <p>일자 : 2012년 11월 14일</p>

양식 BP/4

[0513]

[0514]

[0515]

번역문

특허절차상 미생물기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트조약

국제양식

원기탁에 대한 기탁증

7.1에 의거 발행

기탁자 : 현대자동차주식회사

주소 : 대한민국 서울 서초구 현릉로 12

I. 미생물 분류	
기탁자에 의해 주어진 참조 표시 :	국제 기탁 기관에 의해 주어진 기탁번호 :
<i>Methylobacterium brachiatum</i> HKMC-2	KCCM 11326P
II. 과학적 서술 및/또는 분류학적 명칭	
상기 I 에 표시된 미생물과 관련하여 하기를 첨부함: <input type="checkbox"/> 과학적 기술 <input type="checkbox"/> 제안된 분류학적 명명 (해당란에 x표시)	
III. 수령 및 승인	
본 국제기탁기관은 2012년 11월 14일에 기탁된 상기 I 에 표시된 미생물을 수령한다.	
IV. 국제기탁기관	
명칭 : 한국미생물보존센터(KCCM)	국제기탁기관을 대표권한을 가진자의 서명
주소 : 대한민국 서울시 서대문구 홍제1동 유림빌딩, 361-221	일자 : 2012년 11월 14일

양식 BP/4

[0516]

[0517]

[0518]

번 역 문

특허절차상 미생물기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트조약

국제양식

원기탁에 대한 기탁증

7.1에 의거 발행

기탁자 : 현대자동차주식회사

주소 : 대한민국 서울 서초구 현릉로 12

I. 미생물 분류	
기탁자에 의해 주어진 참조 표시 :	국제 기탁 기관에 의해 주어진 기탁번호 :
<i>Methylobacterium platani</i> HKMC-3	KCCM 11327P
II. 과학적 서술 및/또는 분류학적 명칭	
<p>상기 I 에 표시된 미생물과 관련하여 하기를 첨부함:</p> <p>[] 과학적 기술</p> <p>[] 제안된 분류학적 명명</p> <p>(해당란에 x표시)</p>	
III. 수령 및 승인	
본 국제기탁기관은 2012년 11월 14일 에 기탁된 상기 I 에 표시된 미생물을 수령한다.	
IV. 국제기탁기관	
<p>명칭 : 한국미생물보존센터(KCCM)</p> <p>주소 : 대한민국 서울시 서대문구 홍제1동 유림 빌딩, 361-221</p>	<p>국제기탁기관을 대표권한을 가진자의 서명</p> <p>일자 : 2012년 11월 14일</p>

양식 BP/4

[0519]

번 역 문

특허절차상 미생물기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트조약

국제양식

원기탁에 대한 기탁증

7.1에 의거 발행

기탁자 : 현대자동차주식회사

주소 : 대한민국 서울 서초구 헌릉로 12

I. 미생물 분류	
기탁자에 의해 주어진 참조 표시 :	국제 기탁 기관에 의해 주어진 기탁번호 :
<i>Acinetobacter johnsonii</i> HKMC-4	KCCM 11328P
II. 과학적 서술 및/또는 분류학적 명칭	
<p>상기 I 에 표시된 미생물과 관련하여 하기를 첨부함:</p> <p>[] 과학적 기술</p> <p>[] 제안된 분류학적 명명</p> <p>(해당란에 x표시)</p>	
III. 수령 및 승인	
본 국제기탁기관은 2012년 11월 14일 에 기탁된 상기 I 에 표시된 미생물을 수령한다.	
IV. 국제기탁기관	
<p>명칭 : 한국미생물보존센터(KCCM)</p> <p>주소 : 대한민국 서울시 서대문구 홍제1동 유림 빌딩, 361-221</p>	<p>국제기탁기관을 대표권한을 가진자의 서명</p> <p>일자 : 2012년 11월 14일</p>

양식 BP/4

[0520]

[0521]

[0522]

번 역 문

특허절차상 미생물기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트조약

국제양식

원기탁에 대한 기탁증

7.1에 의거 발행

기탁자 : 현대자동차주식회사

주소 : 대한민국 서울 서초구 헌릉로 12

I. 미생물 분류	
기탁자에 의해 주어진 참조 표시 :	국제 기탁 기관에 의해 주어진 기탁번호 :
<i>Bacillus vietnamensis</i> HKMC-5	KCCM 11329P
II. 과학적 서술 및/또는 분류학적 명칭	
<p>상기 I 에 표시된 미생물과 관련하여 하기를 첨부함:</p> <p><input type="checkbox"/> 과학적 기술</p> <p><input type="checkbox"/> 제안된 분류학적 명명</p> <p>(해당란에 x표시)</p>	
III. 수령 및 승인	
본 국제기탁기관은 2012년 11월 14일 에 기탁된 상기 I 에 표시된 미생물을 수령한다.	
IV. 국제기탁기관	
<p>명칭 : 한국미생물보존센터(KCCM)</p> <p>주소 : 대한민국 서울시 서대문구 홍제1동 유림 빌딩, 361-221</p>	<p>국제기탁기관을 대표권한을 가진자의 서명</p> <p>일자 : 2012년 11월 14일</p>

양식 BP/4

[0523]

[0524]

[0525]

번 역 문

특허절차상 미생물기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트조약

국제양식

원기탁에 대한 기탁증

7.1에 의거 발행

기탁자 : 현대자동차주식회사

주소 : 대한민국 서울 서초구 현릉로 12

I. 미생물 분류	
기탁자에 의해 주어진 참조 표시 :	국제 기탁 기관에 의해 주어진 기탁번호 :
<i>Brevibacillus invocatus</i> HKMC-6	KCCM 11330P
II. 과학적 서술 및/또는 분류학적 명칭	
<p>상기 I 에 표시된 미생물과 관련하여 하기를 첨부함:</p> <p>[] 과학적 기술</p> <p>[] 제안된 분류학적 명명</p> <p>(해당란에 x표시)</p>	
III. 수령 및 승인	
<p>본 국제기탁기관은 2012년 11월 14일에 기탁된 상기 I 에 표시된 미생물을 수령한다.</p>	
IV. 국제기탁기관	
<p>명칭 : 한국미생물보존센터(KCCM)</p> <p>주소 : 대한민국 서울시 서대문구 홍제1동 유림 빌딩, 361-221</p>	<p>국제기탁기관을 대표권한을 가진자의 서명</p> <p>일자 : 2012년 11월 14일</p>

양식 BP/4

[0526]

[0527]

[0528]

번 역 문

특허절차상 미생물기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트조약

국제양식
원기탁에 대한 기탁증
7.1에 의거 발행

기탁자 : 현대자동차주식회사
주소 : 대한민국 서울 서초구 현릉로 12

I. 미생물 분류	
기탁자에 의해 주어진 참조 표시 :	국제 기탁 기관에 의해 주어진 기탁번호 :
<i>Deinococcus ficus</i> HKMC-7	KCCM 11331P
II. 과학적 서술 및/또는 분류학적 명칭	
상기 I 에 표시된 미생물과 관련하여 하기를 첨부함: <input type="checkbox"/> 과학적 기술 <input type="checkbox"/> 제안된 분류학적 명명 (해당란에 x표시)	
III. 수령 및 승인	
본 국제기탁기관은 2012년 11월 14일 에 기탁된 상기 I 에 표시된 미생물을 수령한다.	
IV. 국제기탁기관	
명칭 : 한국미생물보존센터(KCCM) 주소 : 대한민국 서울시 서대문구 홍제1동 유림 빌딩, 361-221	국제기탁기관을 대표권한을 가진자의 서명 일자 : 2012년 11월 14일

양식 BP/4

[0529]
[0530]
[0531]

번 역 문

특허절차상 미생물기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트조약

국제양식

원기탁에 대한 기탁증

7.1에 의거 발행

기탁자 : 현대자동차주식회사

주소 : 대한민국 서울 서초구 헌릉로 12

I. 미생물 분류	
기탁자에 의해 주어진 참조 표시 :	국제 기탁 기관에 의해 주어진 기탁번호 :
<i>Leifsonia soli</i> HKMC-8	KCCM 11332P
II. 과학적 서술 및/또는 분류학적 명칭	
<p>상기 I 에 표시된 미생물과 관련하여 하기를 첨부함:</p> <p>[] 과학적 기술</p> <p>[] 제안된 분류학적 명명 (해당란에 x표시)</p>	
III. 수령 및 승인	
본 국제기탁기관은 2012년 11월 14일 에 기탁된 상기 I 에 표시된 미생물을 수령한다.	
IV. 국제기탁기관	
명칭 : 한국미생물보존센터(KCCM)	국제기탁기관을 대표권한을 가진자의 서명
주소 : 대한민국 서울시 서대문구 홍제1동 유림빌딩, 361-221	일자 : 2012년 11월 14일

양식 BP/4

[0532]

[0533]

[0534]

번 역 문

특허절차상 미생물기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트조약

국제양식

원기탁에 대한 기탁증

7.1에 의거 발행

기탁자 : 현대자동차주식회사

주소 : 대한민국 서울 서초구 현릉로 12

I. 미생물 분류	
기탁자에 의해 주어진 참조 표시 :	국제 기탁 기관에 의해 주어진 기탁번호 :
<i>Pseudomonas nitroreducens</i> HKMC-9	KCCM 11333P
II. 과학적 서술 및/또는 분류학적 명칭	
<p>상기 I에 표시된 미생물과 관련하여 하기를 첨부함:</p> <p>[] 과학적 기술</p> <p>[] 제안된 분류학적 명명</p> <p>(해당란에 x표시)</p>	
III. 수령 및 승인	
<p>본 국제기탁기관은 2012년 11월 14일에 기탁된 상기 I에 표시된 미생물을 수령한다.</p>	
IV. 국제기탁기관	
<p>명칭 : 한국미생물보존센터(KCCM)</p> <p>주소 : 대한민국 서울시 서대문구 홍제1동 유림 빌딩, 361-221</p>	<p>국제기탁기관을 대표권한을 가진자의 서명</p> <p>일자 : 2012년 11월 14일</p>

양식 BP/4

[0535]

[0536]

[0537]

번 역 문

특허절차상 미생물기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트조약

국제양식

원기탁에 대한 기탁증

7.1에 의거 발행

기탁자 : 현대자동차주식회사

주소 : 대한민국 서울 서초구 현릉로 12

I. 미생물 분류	
기탁자에 의해 주어진 참조 표시 :	국제 기탁 기관에 의해 주어진 기탁번호 :
<i>Sphingomonas aquatilis</i> HKMC-10	KCCM 11334P
II. 과학적 서술 및/또는 분류학적 명칭	
<p>상기 I에 표시된 미생물과 관련하여 하기를 첨부함:</p> <p>[] 과학적 기술</p> <p>[] 제안된 분류학적 명명</p> <p>(해당란에 x표시)</p>	
III. 수령 및 승인	
본 국제기탁기관은 2012년 11월 14일에 기탁된 상기 I에 표시된 미생물을 수령한다.	
IV. 국제기탁기관	
<p>명칭 : 한국미생물보존센터(KCCM)</p> <p>주소 : 대한민국 서울시 서대문구 홍제1동 유림 빌딩, 361-221</p>	<p>국제기탁기관을 대표권한을 가진자의 서명</p> <p>일자 : 2012년 11월 14일</p>

양식 BP/4

[0538]

[0539]

[0540]

번 역 문

특허절차상 미생물기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트조약

국제양식

원기탁에 대한 기탁증

7.1에 의거 발행

기탁자 : 현대자동차주식회사

주소 : 대한민국 서울 서초구 헌릉로 12

I. 미생물 분류	
기탁자에 의해 주어진 참조 표시 :	국제 기탁 기관에 의해 주어진 기탁번호 :
<i>Methylobacterium komagatae</i> HKMC-11	KCCM 11335P
II. 과학적 서술 및/또는 분류학적 명칭	
상기 I 에 표시된 미생물과 관련하여 하기를 첨부함: <input type="checkbox"/> 과학적 기술 <input type="checkbox"/> 제안된 분류학적 명명 (해당란에 x표시)	
III. 수령 및 승인	
본 국제기탁기관은 2012년 11월 14일 에 기탁된 상기 I 에 표시된 미생물을 수령한다.	
IV. 국제기탁기관	
명칭 : 한국미생물보존센터(KCCM)	국제기탁기관을 대표권한을 가진자의 서명
주소 : 대한민국 서울시 서대문구 홍제1동 유림 빌딩, 361-221	일자 : 2012년 11월 14일

양식 BP/4

[0541]

[0542]

[0543]

번 역 문

특허절차상 미생물기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트조약

국제양식

원기탁에 대한 기탁증

7.1에 의거 발행

기탁자 : 현대자동차주식회사

주소 : 대한민국 서울 서초구 현릉로 12

I. 미생물 분류	
기탁자에 의해 주어진 참조 표시 :	국제 기탁 기관에 의해 주어진 기탁번호 :
<i>Deinococcus apachensis</i> HKMC-12	KCCM 11499P
II. 과학적 서술 및/또는 분류학적 명칭	
<p>상기 I 에 표시된 미생물과 관련하여 하기를 첨부함:</p> <p>[] 과학적 기술</p> <p>[] 제안된 분류학적 명명</p> <p>(해당란에 x표시)</p>	
III. 수령 및 승인	
본 국제기탁기관은 2013년 12월 10일 에 기탁된 상기 I 에 표시된 미생물을 수령한다.	
IV. 국제기탁기관	
명칭 : 한국미생물보존센터(KCCM)	국제기탁기관을 대표권한을 가진자의 서명
주소 : 대한민국 서울시 서대문구 홍제1동 유림 빌딩, 361-221	일자 : 2013년 12월 10일

양식 BP/4

[0544]

[0545]

[0546]

번 역 문

특허절차상 미생물기탁의 국제적 승인에 관한 부다페스트조약

국제양식

원기탁에 대한 기탁증

7.1에 의거 발행

기탁자 : 현대자동차주식회사

주소 : 대한민국 서울 서초구 헌릉로 12

I. 미생물 분류	
기탁자에 의해 주어진 참조 표시 :	국제 기탁 기관에 의해 주어진 기탁번호 :
<i>Flavobacterium oceanosedimentum</i> HKMC-13	KCCM 11500P
II. 과학적 서술 및/또는 분류학적 명칭	
<p>상기 I 에 표시된 미생물과 관련하여 하기를 첨부함:</p> <p>[] 과학적 기술</p> <p>[] 제안된 분류학적 명명</p> <p>(해당란에 x표시)</p>	
III. 수령 및 승인	
본 국제기탁기관은 2013년 12월 10일 에 기탁된 상기 I 에 표시된 미생물을 수령한다.	
IV. 국제기탁기관	
명칭 : 한국미생물보존센터(KCCM)	국제기탁기관을 대표권한을 가진자의 서명
주소 : 대한민국 서울시 서대문구 홍제1동 유림빌딩, 361-221	일자 : 2013년 12월 10일

양식 BP/4

청구범위

- [청구항 1] 메틸로박테리움 또는 이의 배양액을 포함하는 냄새 방지용 조성물.
- [청구항 2] 제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 공조장치에서 발생하는 냄새를 방지하기 위한 것을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 3] 제 1 항에 있어서, 상기 메틸로박테리움은 메틸로박테리움 *코마가태* (*Methylobacterium komagatae*), 메틸로박테리움 *아쿠아티쿰* (*Methylobacterium aquaticum*), 메틸로박테리움 *브라키아툼* (*Methylobacterium brachiatum*) 및 메틸로박테리움 *플래타니* (*Methylobacterium platani*)로 구성된 군으로부터 선택되는 1 또는 2 이상의 메틸로박테리움인 것을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 4] 제 3 항에 있어서, 상기 메틸로박테리움은 메틸로박테리움 *코마가태* HKMC-11 (KCCM11335P), 메틸로박테리움 *아쿠아티쿰* HKMC-1 (KCCM11325P), 메틸로박테리움 *브라키아툼* HKMC-2 (KCCM11326P) 및 메틸로박테리움 *플래타니* HKMC-3 (KCCM11327P)로 구성된 군으로부터 선택되는 1 또는 2 이상의 메틸로박테리움인 것을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 5] 제 1 항에 있어서, 상기 조성물은 *아시네토박터 존스니* (*Acinetobacter johnsonii*), *바실러스 베트남렌시스* (*Bacillus vietnamensis*), *브레비바실러스 인보카투스* (*brevibacillus invocatus*), *데이노코쿠스 피쿠스* (*Deinococcus ficus*), *레이프소니아 솔리* (*Leifsonia soli*), *슈도모나스 나이트로리듀센스* (*Pseudomonas nitroreducens*), *스핑고모나스 아쿠아틸리스* (*Sphingomonas aquatilis*), *데이노코쿠스 아파켄시스* (*Deinococcus apachensis*) 및 *플라보박테리움 오케아노세디멘툼* (*Flavobacterium oceanosedimentum*)로 이루어진 군에서 선택되는 1종 또는 2종 이상의 미생물 또는 이의 배양액을 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 6] 제 5 항에 있어서, 상기 조성물은 *아시네토박터 존스니* HKMC-4 (KCCM11328P), *바실러스 베트남렌시스* HKMC-5 (KCCM11329P), *브레비바실러스 인보카투스* HKMC-6 (KCCM11330P), *데이노코쿠스 피쿠스* HKMC-7 (KCCM11331P), *레이프소니아 솔리* HKMC-8 (KCCM11332P), *슈도모나스 나이트로리듀센스* HKMC-9 (KCCM11333P), *스핑고모나스 아쿠아틸리스* HKMC-10 (KCCM11334P), *데이노코쿠스 아파켄시스* HKMC-12 (KCCM11499P) 및 *플라보박테리움 오케아노세디멘툼* HKMC-13

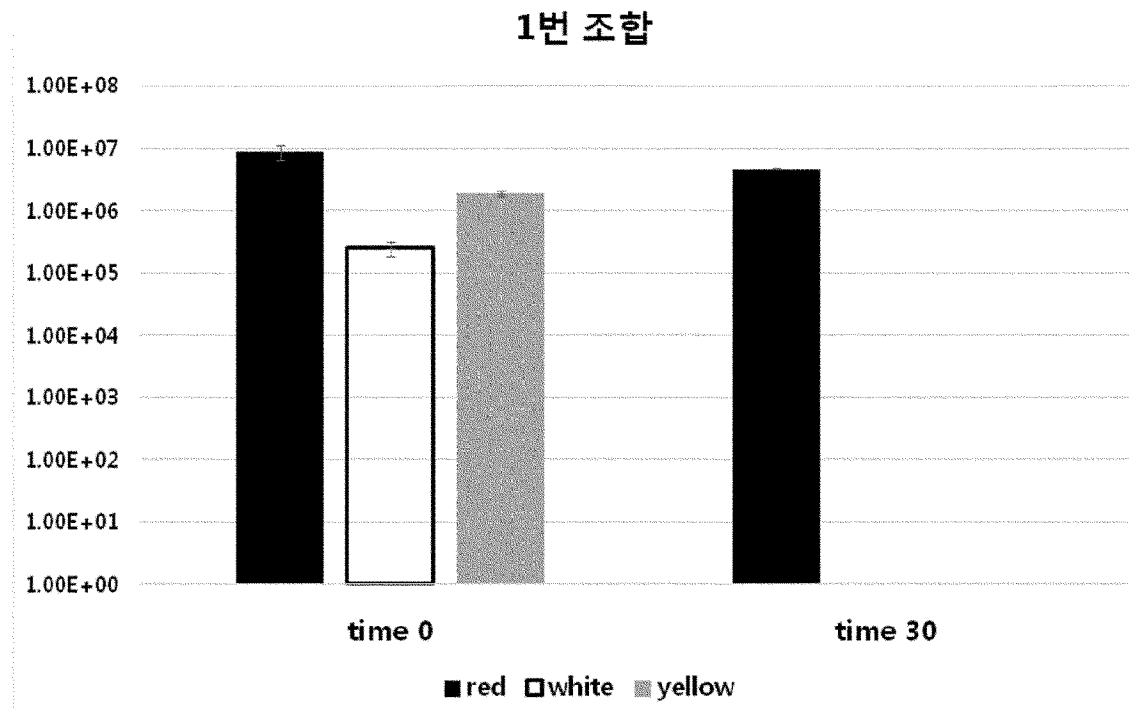
- (KCCM11500P)으로 이루어진 군에서 선택되는 1종 또는 2종 이상의 미생물 또는 이의 배양액을 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 조성물.
- [청구항 7] 제 1 항의 냄새 방지용 조성물이 코팅된 에바코어 (evaporator core).
- [청구항 8] 제 7 항에 있어서, 상기 에바코어에는 제 1 내지 제 6 항 중 어느 한 항의 미생물이 10^4 cfu/g 내지 10^8 cfu/g의 농도로 부착된 것을 특징으로 하는 에바코어.
- [청구항 9] 제 8 항에 있어서, 상기 미생물의 부착은 O.D. (optical density) 값이 0.3 내지 0.9인 미생물 배양액을 이용하여 부착된 것을 특징으로 하는 에바코어.
- [청구항 10] 제 7 항에 있어서, 상기 조성물 내 미생물은 에바코어 표면에 바이오필름을 형성하는 것을 특징으로 하는 에바코어.
- [청구항 11] 제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항의 조성물을 에바코어에 코팅하는 단계를 포함하는 공조장치 내 냄새를 유발시키지 않는 무취 에바코어 제조방법.
- [청구항 12] 제 11 항에 있어서, 상기 코팅하는 단계는 상기 조성물에 포함된 미생물을 10^4 cfu/g 내지 10^8 cfu/g의 농도로 에바코어에 부착시키는 과정을 포함하는 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 13] 제 11 항에 있어서, 상기 제조방법은 코팅된 조성물 내 미생물을 번식시켜 바이오필름을 형성하는 단계를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 제조방법.
- [청구항 14] 제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항의 조성물을 에바코어에 코팅하는 단계를 포함하는 공조장치 냄새 방지방법.
- [청구항 15] 제 14 항에 있어서, 상기 코팅하는 단계는 상기 조성물에 포함된 미생물을 10^4 cfu/g 내지 10^8 cfu/g의 농도로 에바코어에 부착시키는 과정을 포함하는 것을 특징으로 하는 냄새 방지방법.
- [청구항 16] 제 14 항에 있어서, 상기 냄새 방지방법은 상기 조성물 내에 포함된 미생물을 번식시켜 바이오필름을 형성하는 단계를 추가적으로 포함하는 것을 특징으로 하는 냄새 방지방법.
- [청구항 17] 제 1 항 내지 제 6 항 중 어느 한 항의 조성물을 에바코어에 코팅하는 단계를 포함하는 공조장치 냄새 확인방법.
- [청구항 18] 제 17 항에 있어서, 상기 냄새 확인방법은 상기 코팅된 조성물 내에 포함된 미생물의 영양분이 되는 석유류 또는 공기 오염 물질을 투입하여 냄새가 발생하는 지 여부를 확인하는 단계를 포함하는 것을 특징으로 하는 냄새 확인 방법.
- [청구항 19] 제 14 항의 공조장치 냄새 방지를 위한 에바코어 코팅 용도의 메틸로박테리움 코마가타 HKMC-11 (*Methylobacterium komagatae* HKMC-11) (KCCM11335P).

- [청구항 20] 제 14 항의 공조장치 냄새 방지를 위한 에바코어 코팅 용도의 메틸로박테리움 아쿠아티쿰 HKMC-1 (*Methylobacterium aquaticum* HKMC-1)(KCCM11325P).
- [청구항 21] 제 14 항의 공조장치 냄새 방지를 위한 에바코어 코팅 용도의 메틸로박테리움 브라키아툼 HKMC-2 (*Methylobacterium brachiatum* HKMC-2)(KCCM11326P).
- [청구항 22] 제 14 항의 공조장치 냄새 방지를 위한 에바코어 코팅 용도의 메틸로박테리움 플라타니 HKMC-3 (*Methylobacterium platani* HKMC-3)(KCCM11327P).
- [청구항 23] 제 14 항의 공조장치 냄새 방지를 위한 에바코어 코팅 용도의 아시네토박터 존스니 HKMC-4 (*Acinetobacter johnsonii* HKMC-4)(KCCM11328P).
- [청구항 24] 제 14 항의 공조장치 냄새 방지를 위한 에바코어 코팅 용도의 바실러스 베트남렌시스 HKMC-5 (*Bacillusvietnamensis* HKMC-5)(KCCM11329P).
- [청구항 25] 제 14 항의 공조장치 냄새 방지를 위한 에바코어 코팅 용도의 브레비바실러스 인보카투스 HKMC-6 (*Brevibacillus invocatus* HKMC-6)(KCCM11330P).
- [청구항 26] 제 14 항의 공조장치 냄새 방지를 위한 에바코어 코팅 용도의 데이노코쿠스 피쿠스 HKMC-7 (*Deinococcus ficus* HKMC-7)(KCCM11331P).
- [청구항 27] 제 14 항의 공조장치 냄새 방지를 위한 에바코어 코팅 용도의 레이프소니아 솔리 HKMC-8 (*Leifsonia soli* HKMC-8)(KCCM11332P).
- [청구항 28] 제 14 항의 공조장치 냄새 방지를 위한 에바코어 코팅 용도의 슈도모나스 나이트로리듀센스 HKMC-9 (*Pseudomonas nitroreducens* HKMC-9)(KCCM11333P).
- [청구항 29] 제 14 항의 공조장치 냄새 방지를 위한 에바코어 코팅 용도의 스프링고모나스 아쿠아틸리스 HKMC-10 (*Sphingomonas aquatilis* HKMC-10)(KCCM11334P).
- [청구항 30] 제 14 항의 공조장치 냄새 방지를 위한 에바코어 코팅 용도의 데이노코쿠스 아파첸시스 HKMC-12 (*Deinococcus apachensis* HKMC-12) (KCCM11499P).
- [청구항 31] 제 14 항의 공조장치 냄새 방지를 위한 에바코어 코팅 용도의 플라보박테리움 오케아노세디멘툼 HKMC-13 (*Flavobacterium oceanosedimentum* HKMC-13) (KCCM11500P).

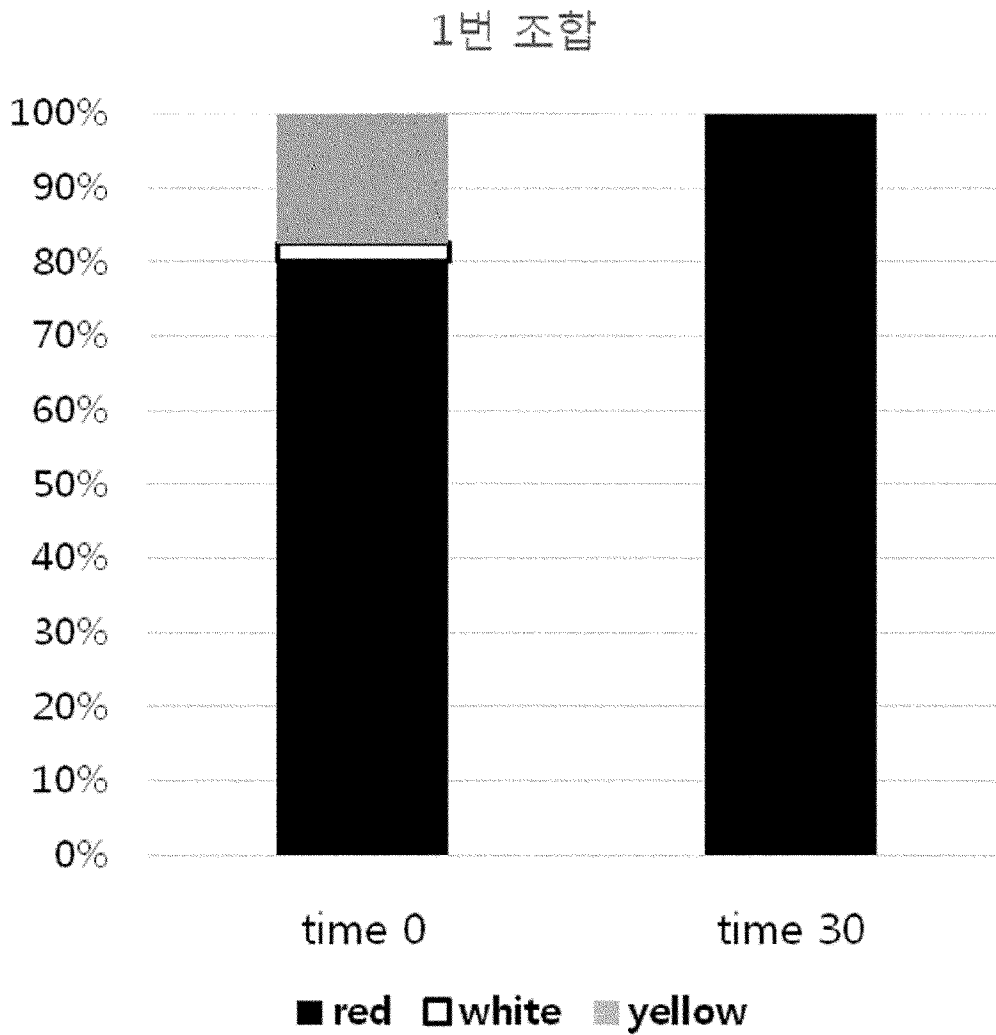
[Fig. 1]



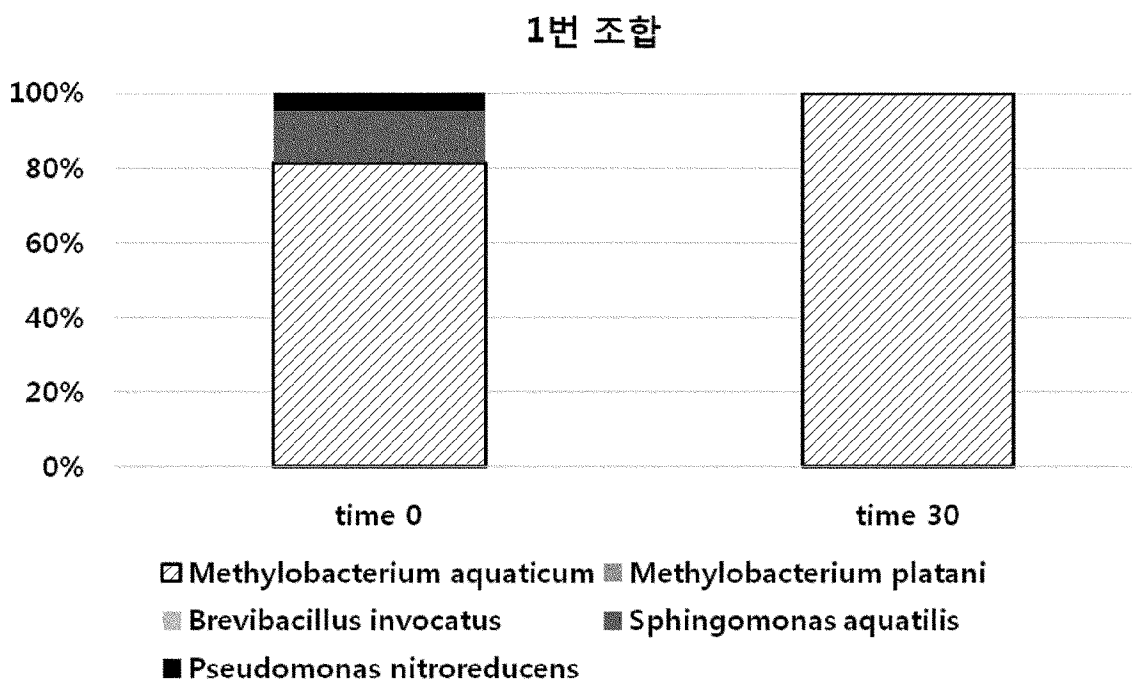
[Fig. 2]



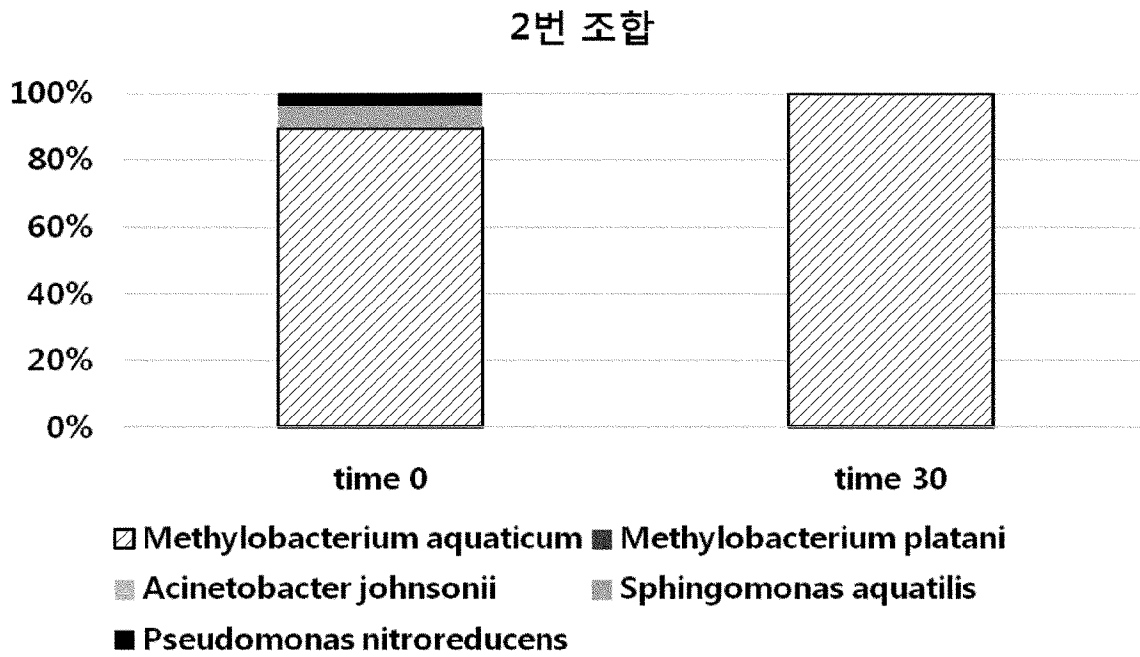
[Fig. 3]



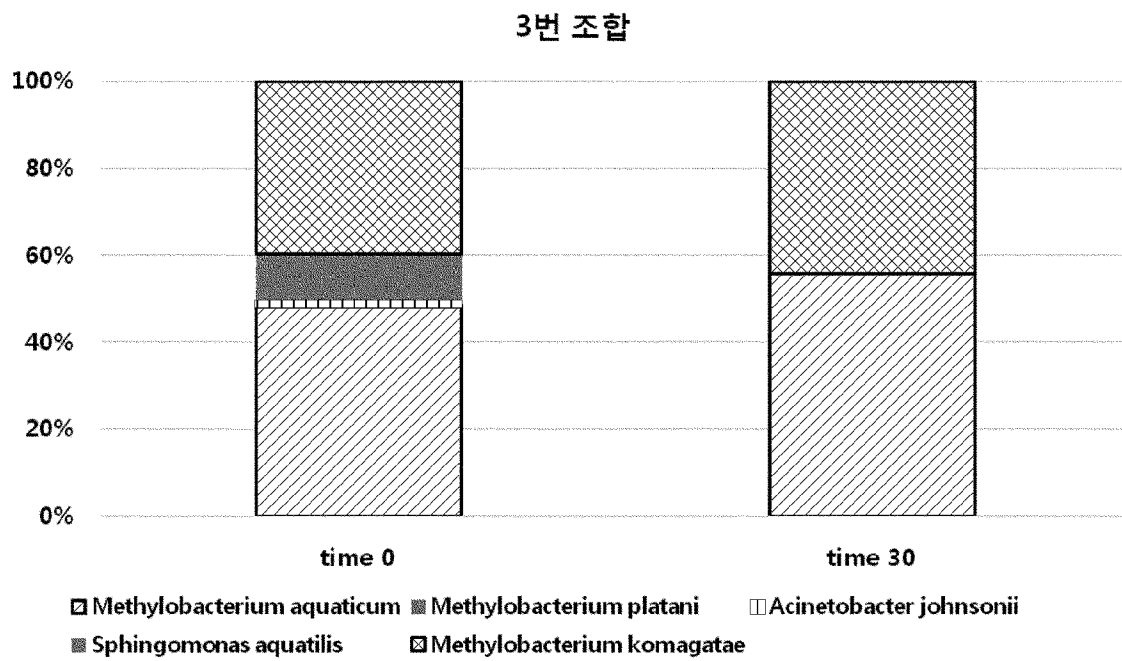
[Fig. 4]



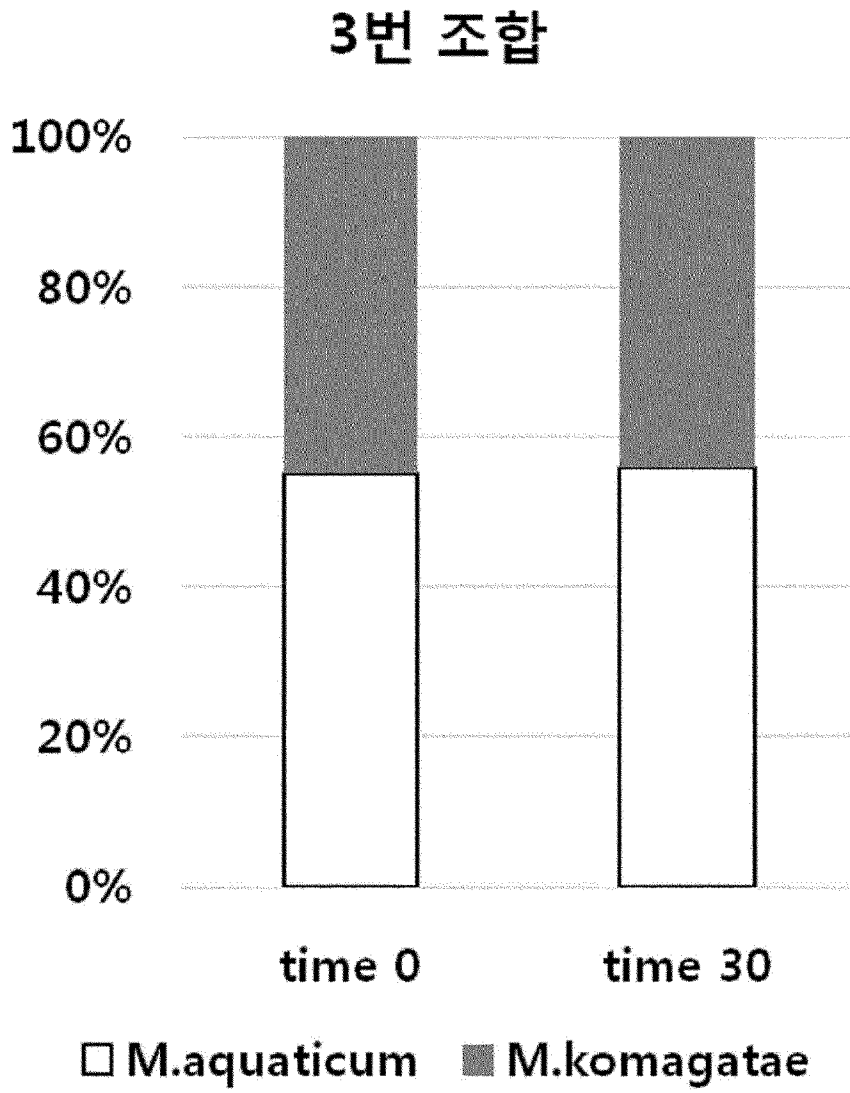
[Fig. 5]



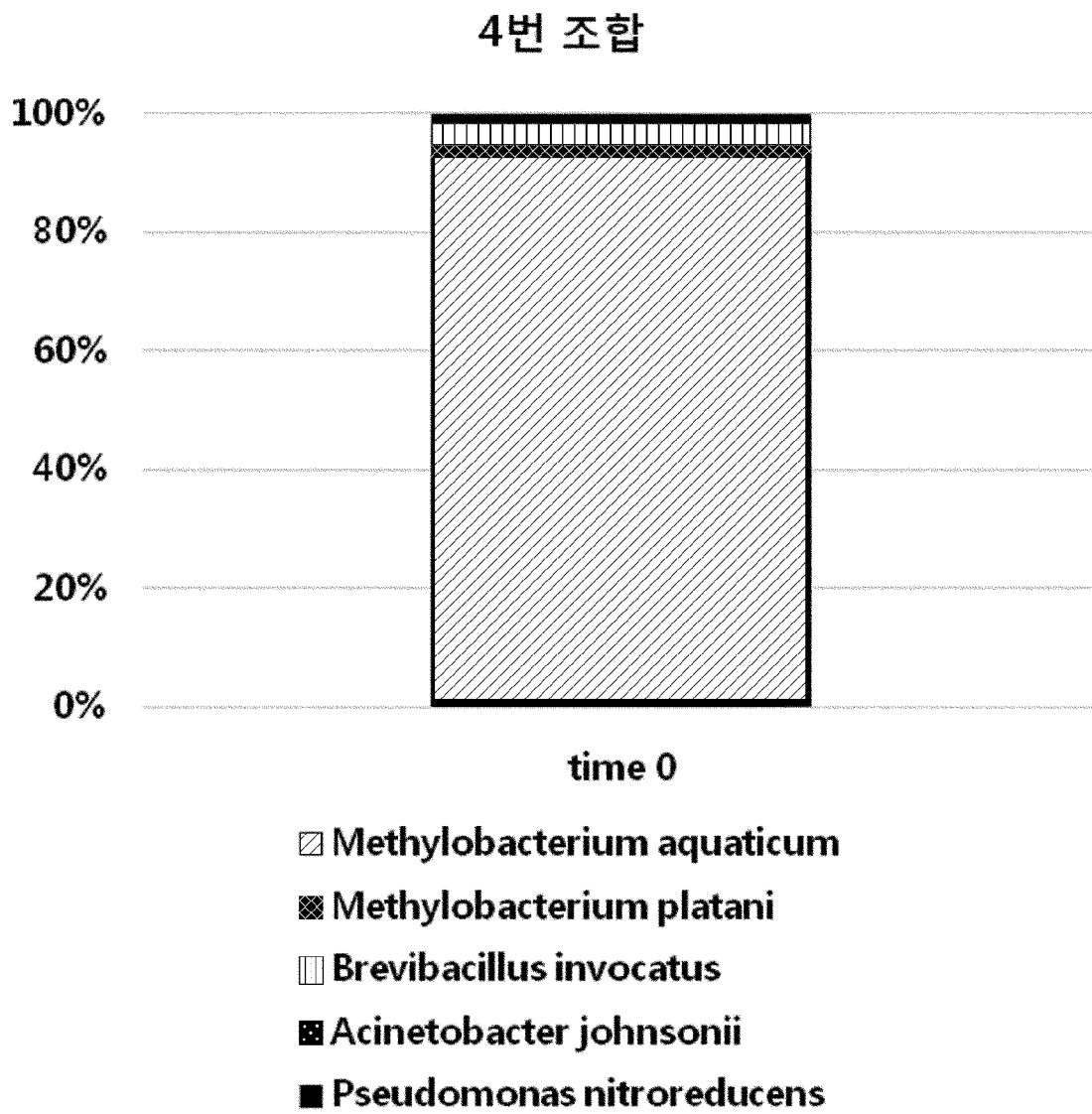
[Fig. 6]



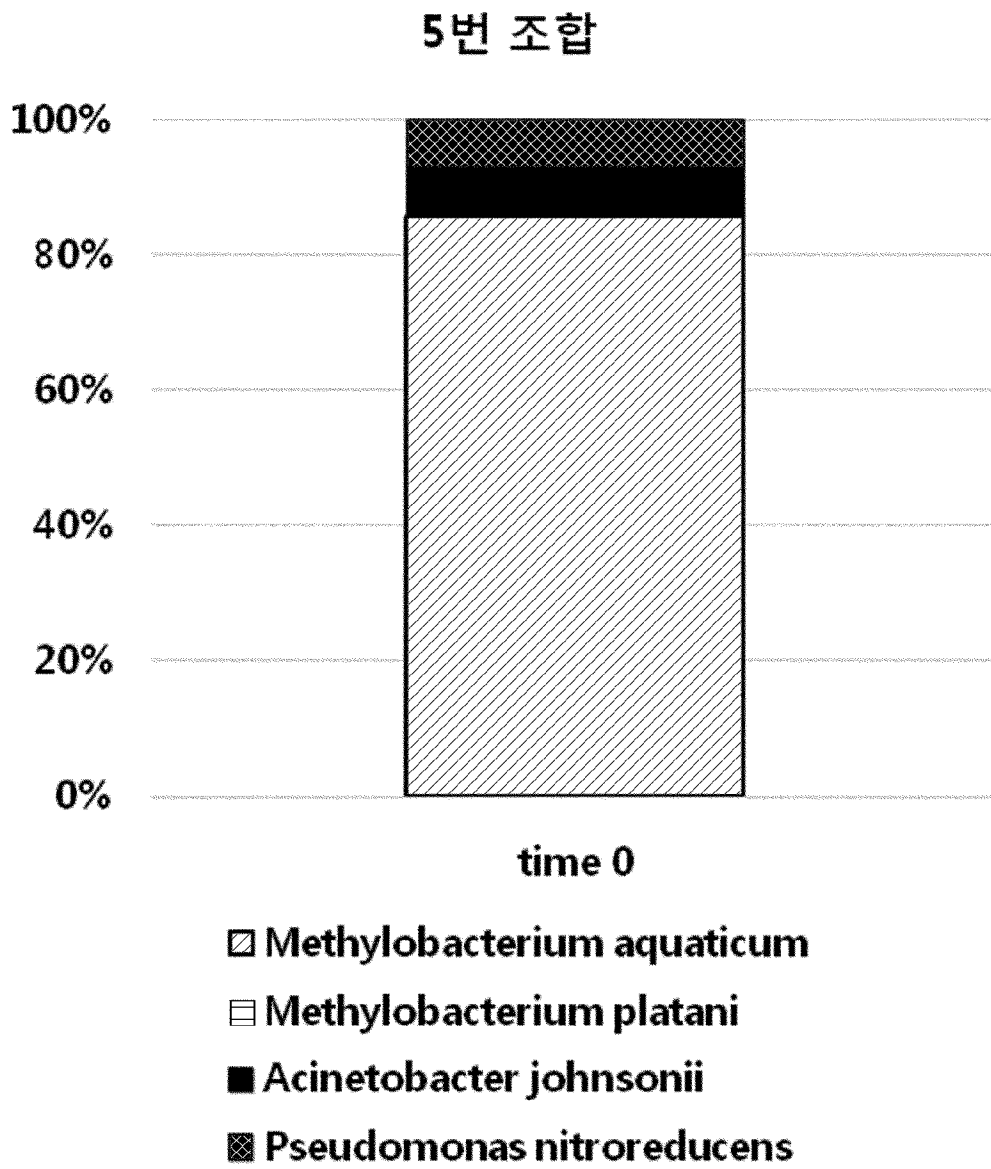
[Fig. 7]



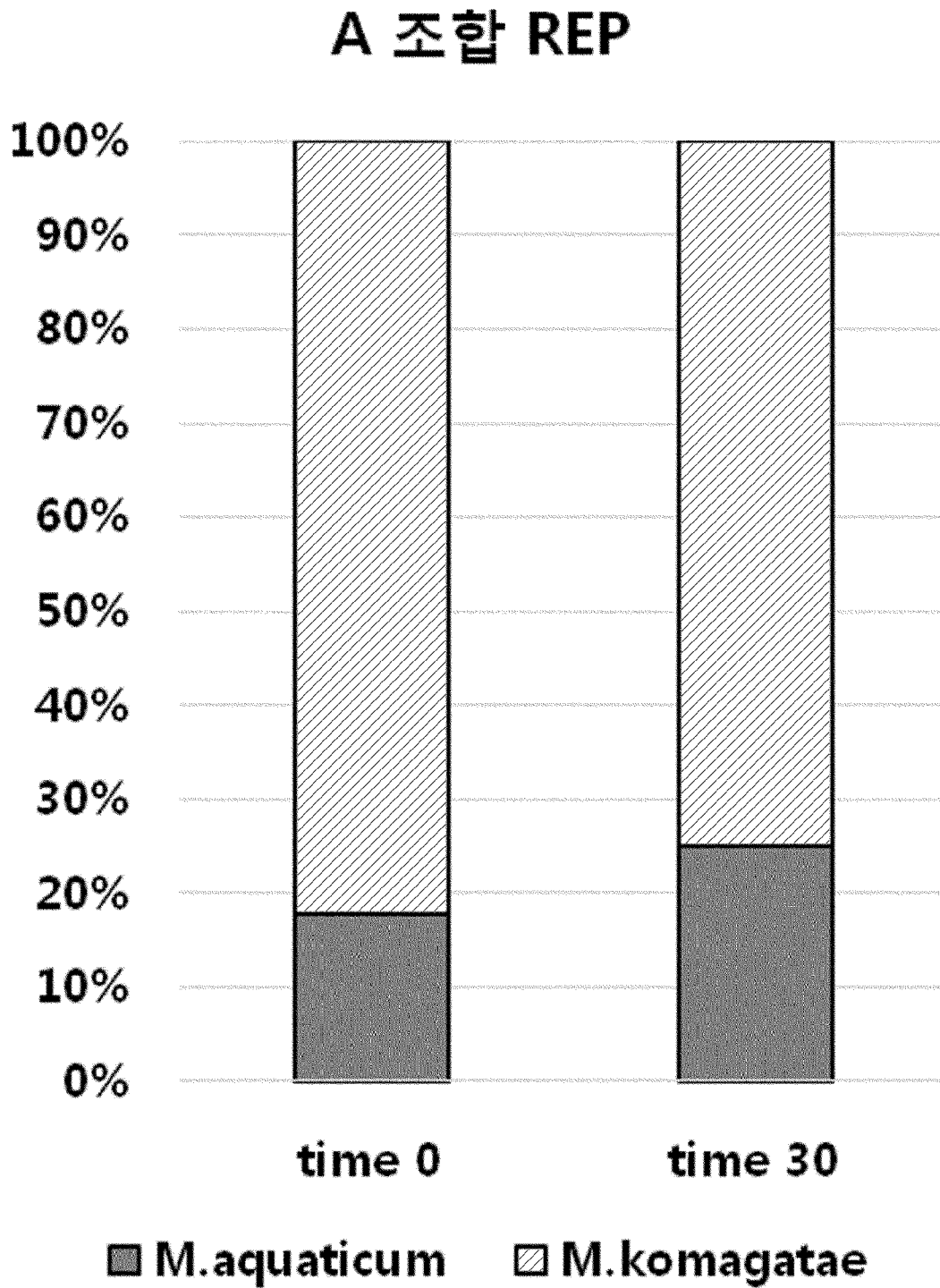
[Fig. 8]



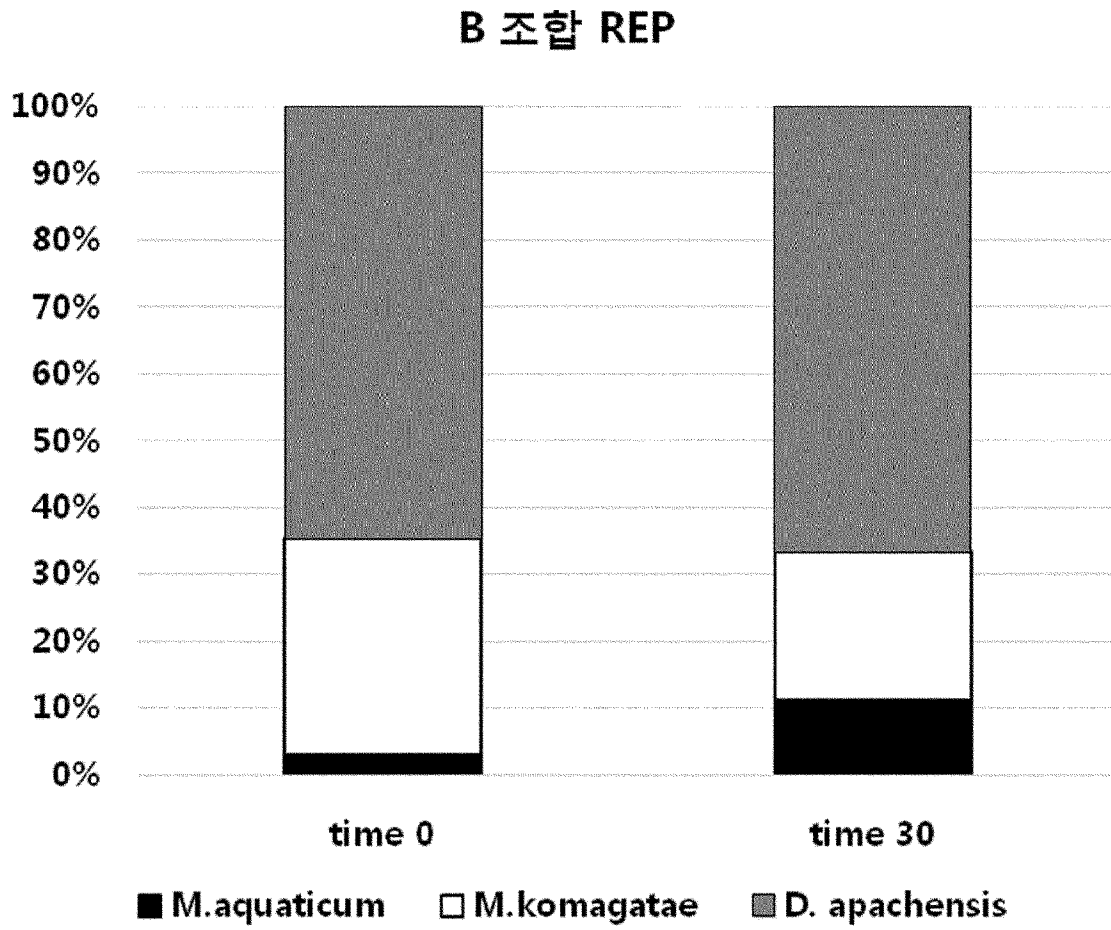
[Fig. 9]



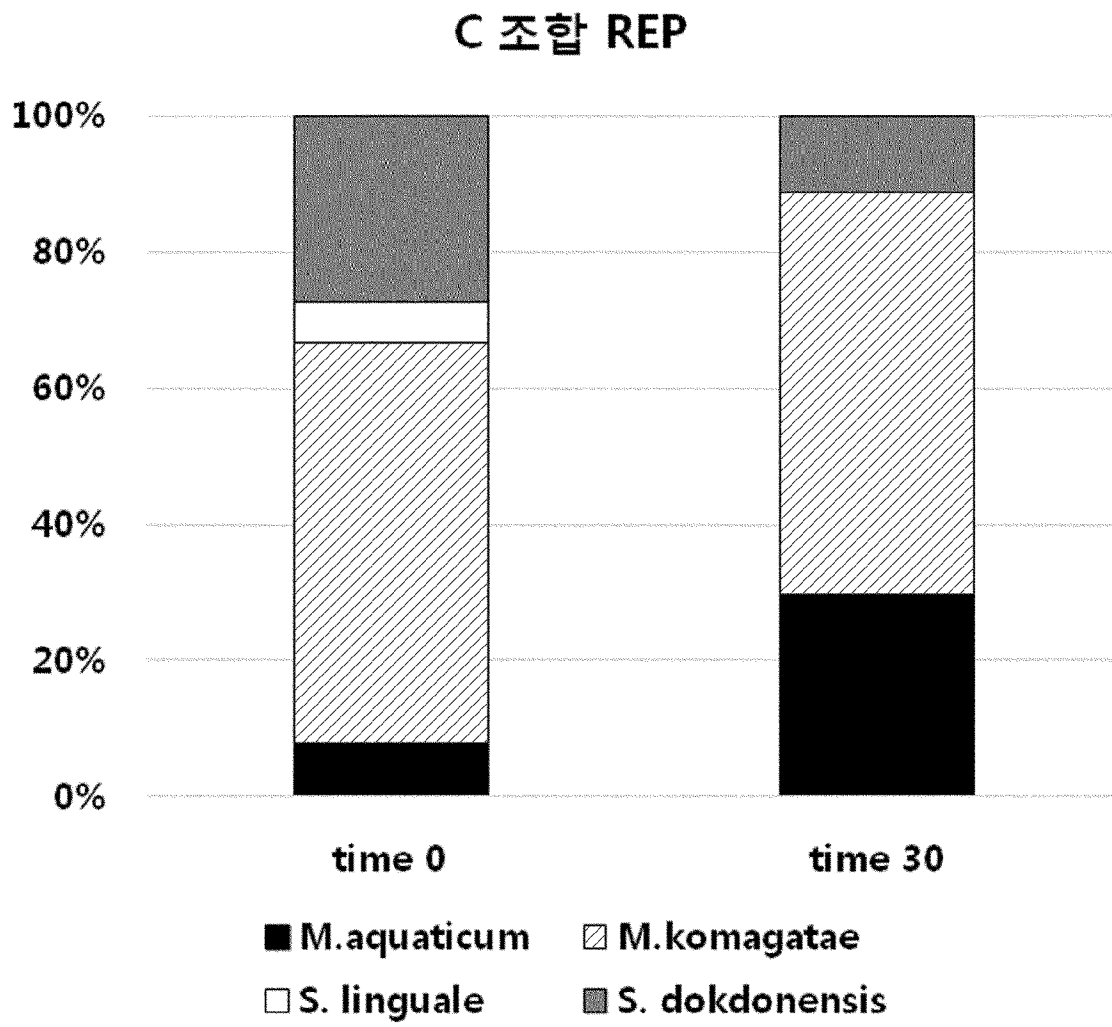
[Fig. 10]



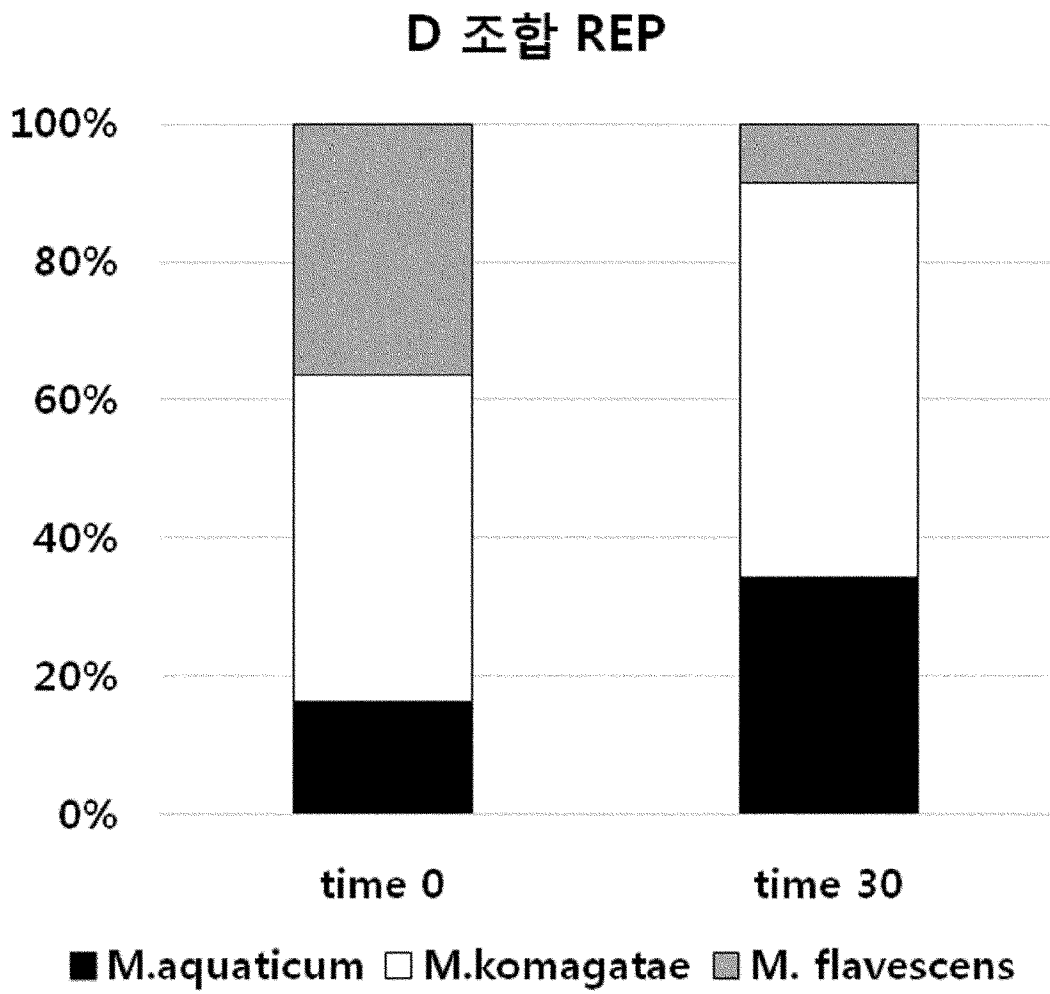
[Fig. 11]



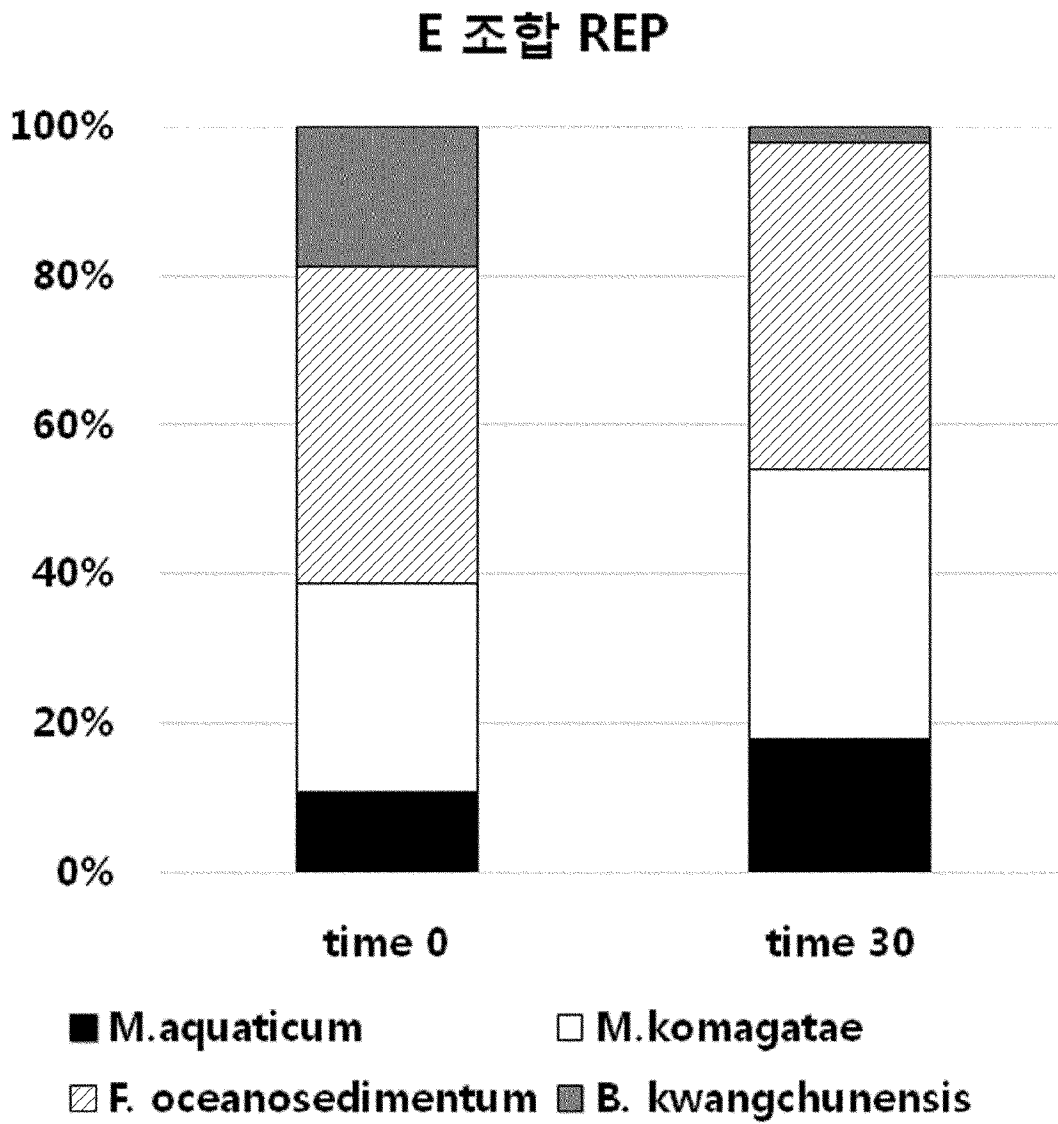
[Fig. 12]



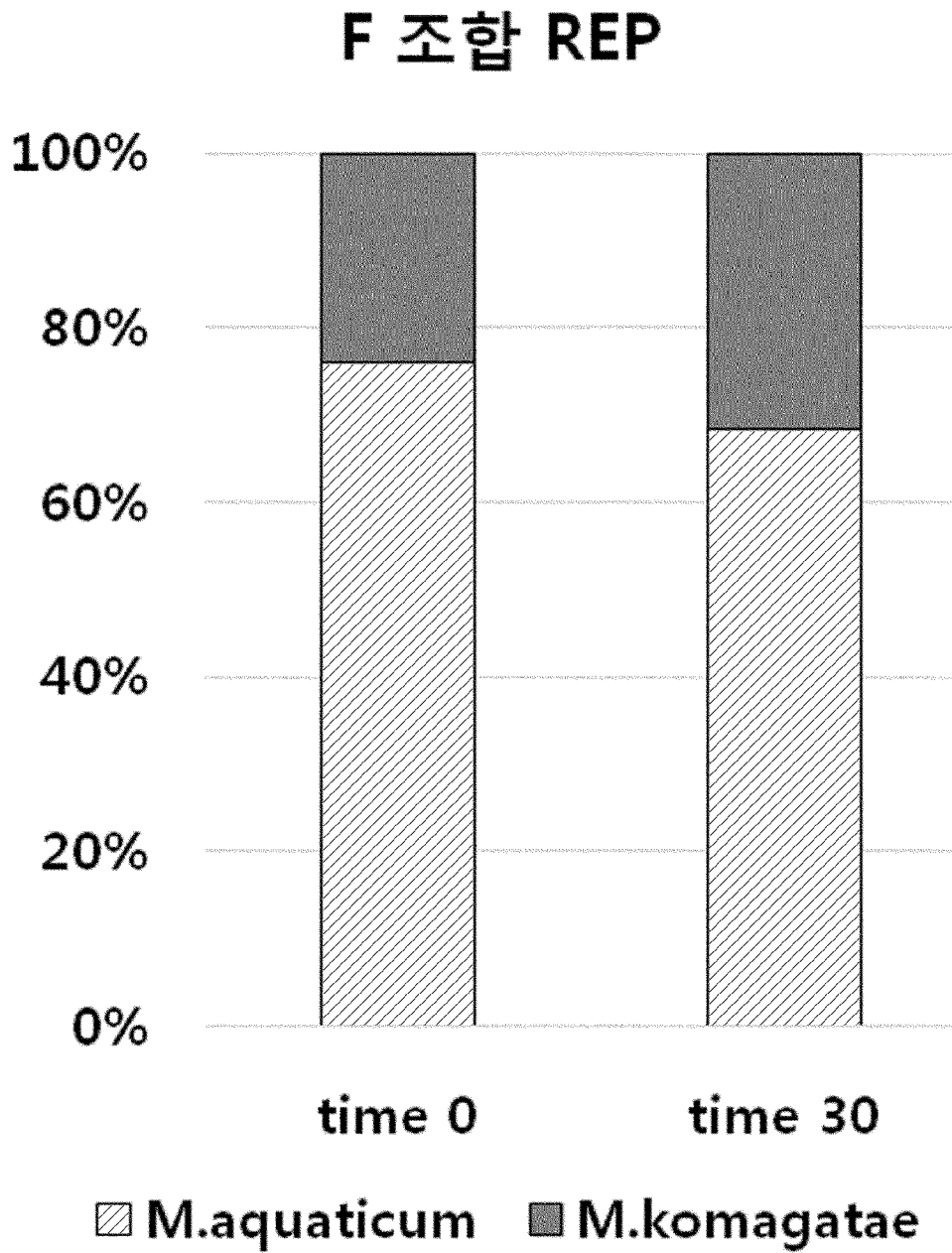
[Fig. 13]



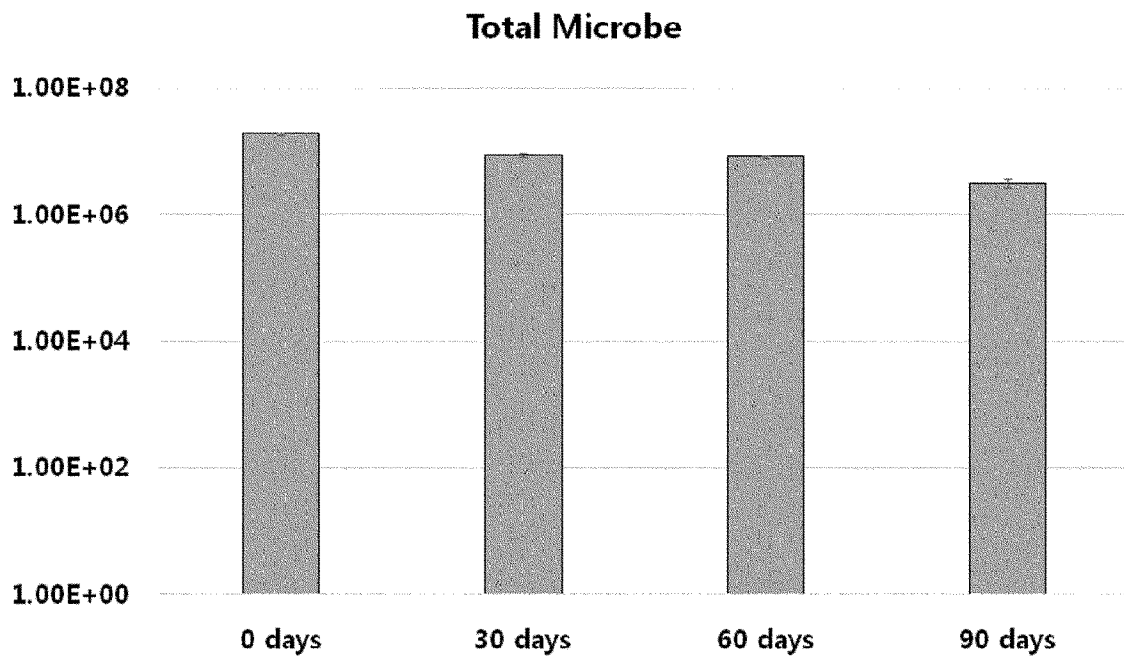
[Fig. 14]



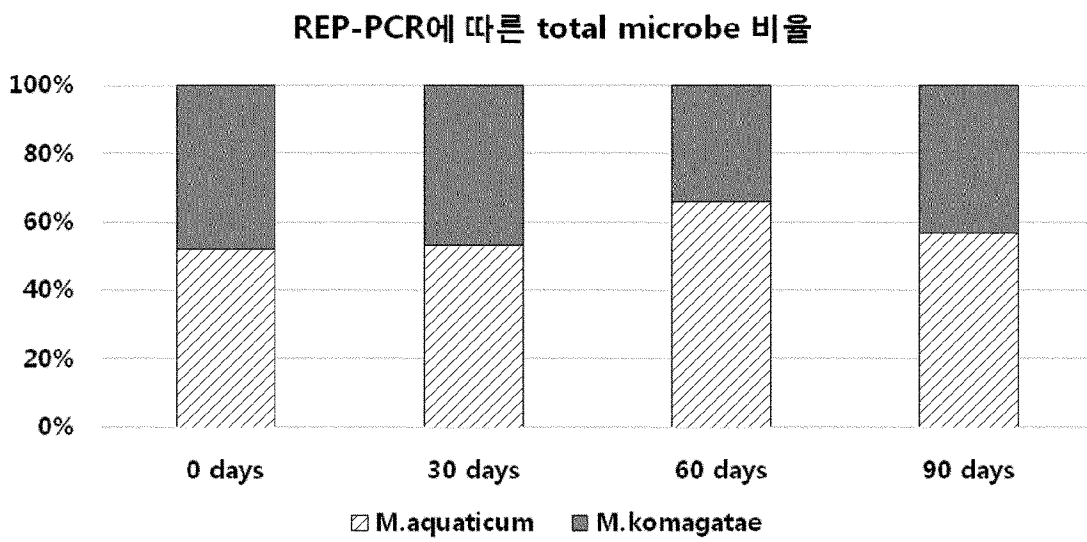
[Fig. 15]



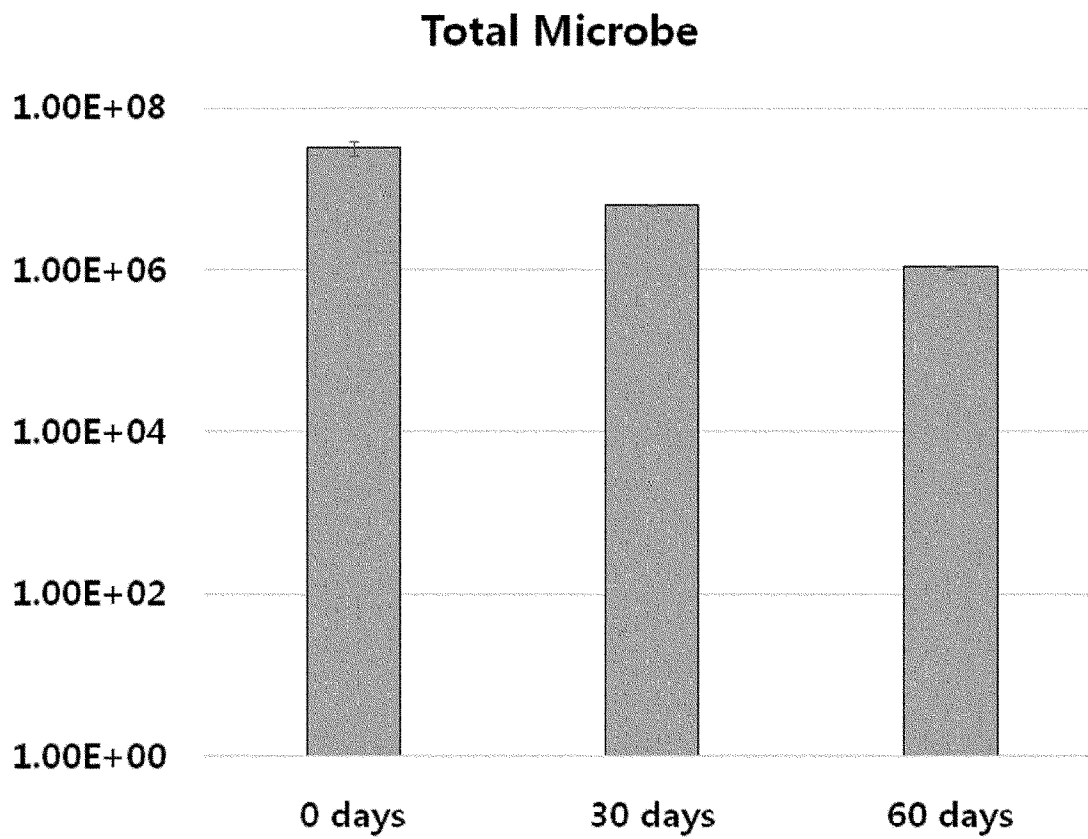
[Fig. 16]



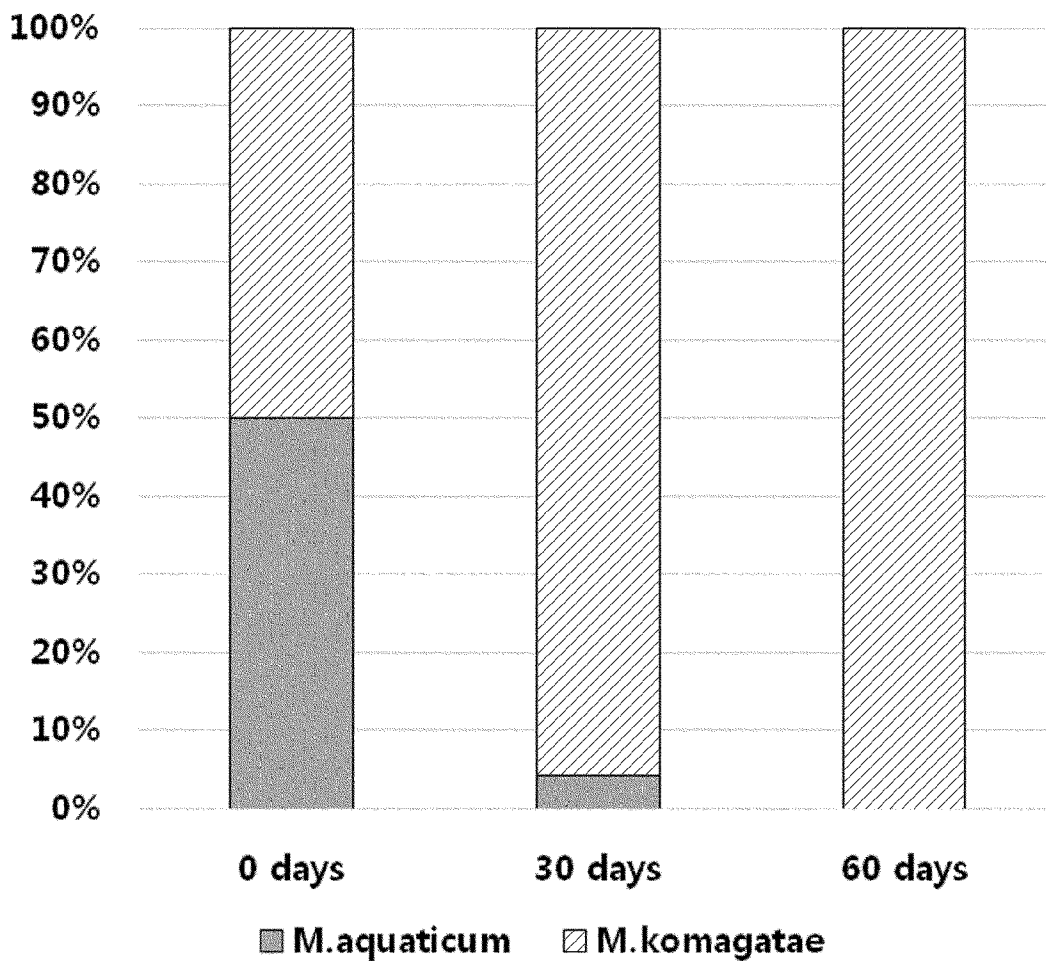
[Fig. 17]



[Fig. 18]



[Fig. 19]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/KR2013/012052

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12N 1/20(2006.01)i, C12N 1/21(2006.01)i, A61L 9/00(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)

C12N 1/20; A61L 9/012; F28F 19/02; C02F 3/34; A61L 9/01; C12N 1/21; A61L 9/00

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: methylobacterium, odor control, air conditioning, evaporator core, microorganism, bio film

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SIMMONS, Robert B. et al., CURRENT MICROBIOLOGY. 1999, vol. 39, no 3, pages 141-145. The Occurrence and Persistence of Mixed Biofilms in Automobile Air Conditioning Systems See abstract, page 144	1-6
Y		7-31
Y	KR 10-2012-0020309 A (HYUNDAI MOTOR COMPANY) 08 March 2012 See abstract, claims 1-8 and etc.	7-31
A	KR 10-1998-0033946 A (PARK, Duk Gyu) 05 August 1998 See the entire document	1-31
A	KR 10-2012-0093641 A (EWAH UNIVERSITY - INDUSTRY COLLABORATION FOUNDATION) 23 August 2012 See the entire document	1-31

 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

26 MARCH 2014 (26.03.2014)

Date of mailing of the international search report

26 MARCH 2014 (26.03.2014)

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 SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/KR2013/012052

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member	Publication date
KR 10-2012-0020309 A	08/03/2012	NONE	
KR 10-1998-0033946 A	05/08/1998	NONE	
KR 10-2012-0093641 A	23/08/2012	JP 2013-532967 A US 2013-0316436 A1 WO 2012-111875 A1	22/08/2013 28/11/2013 23/08/2012

A. 발명이 속하는 기술분류(국제특허분류(IPC))
C12N 1/20(2006.01)i, C12N 1/21(2006.01)i, A61L 9/00(2006.01)i

B. 조사된 분야

조사된 최소문헌(국제특허분류를 기재)
C12N 1/20; A61L 9/012; F28F 19/02; C02F 3/34; A61L 9/01; C12N 1/21; A61L 9/00

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: 메틸로박테리움, 냄새 방지, 공조장치, 에바코어, 미생물, 바이오필름

C. 관련 문헌

카테고리*	인용문헌명 및 관련 구절(해당하는 경우)의 기재	관련 청구항
X	Robert B. Simmons 등. CURRENT MICROBIOLOGY. 1999, Vol. 39, No 3, 페이지 141-145. The Occurrence and Persistence of Mixed Biofilms in Automobile Air Conditioning Systems 요약, 페이지 144 등 참조	1-6
Y		7-31
Y	KR 10-2012-0020309 A (현대자동차주식회사) 2012.03.08 요약, 청구항 제1-8항 등 참조	7-31
A	KR 10-1998-0033946 A (박덕규) 1998.08.05 전체 문헌 참조	1-31
A	KR 10-2012-0093641 A (이화여자대학교 산학협력단) 2012.08.23 전체 문헌 참조	1-31

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 2014년 03월 26일 (26.03.2014)	국제조사보고서 발송일 2014년 03월 26일 (26.03.2014)
--	---

ISA/KR의 명칭 및 우편주소 대한민국 특허청 (302-701) 대전광역시 서구 청사로 189, 4동 (둔산동, 정부대전청사) 팩스 번호 +82-42-472-7140	심사관 최준호 전화번호 +82-42-481-5569
---	------------------------------------

국제조사보고서에서 인용된 특허문헌	공개일	대응특허문헌	공개일
KR 10-2012-0020309 A	2012/03/08	없음	
KR 10-1998-0033946 A	1998/08/05	없음	
KR 10-2012-0093641 A	2012/08/23	JP 2013-532967 A US 2013-0316436 A1 WO 2012-111875 A1	2013/08/22 2013/11/28 2012/08/23