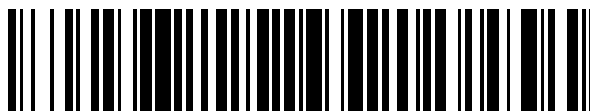


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 723 952**

51 Int. Cl.:

C12R 1/01	(2006.01)
C12R 1/44	(2006.01)
F24F 3/16	(2006.01)
C12Q 1/00	(2006.01)
C12Q 1/02	(2006.01)
C12Q 1/18	(2006.01)
C12N 1/20	(2006.01)
A61L 9/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.12.2014 PCT/KR2014/012111**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **18.06.2015 WO15088237**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.12.2014 E 14870526 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.03.2019 EP 3081650**

54 Título: **Procedimiento de cribado de agente antimicrobiano**

30 Prioridad:

10.12.2013 KR 20130153141
 10.12.2013 KR 20130153142
 17.12.2013 KR 20130156930
 17.12.2013 KR 20130156929
 17.12.2013 KR 20130156928
 17.12.2013 KR 20130156927
 30.12.2013 KR 20130166781
 30.12.2013 KR 20130166782
 11.03.2014 KR 20140028278
 11.03.2014 KR 20140028279
 11.03.2014 KR 20140028280
 11.03.2014 KR 20140028277

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
04.09.2019

73 Titular/es:

HYUNDAI MOTOR COMPANY (100.0%)
12, Heolleung-ro, Seocho-gu
Seoul 137-938, KR

72 Inventor/es:

LEE, TAE HEE;
KIM, JI WAN y
PARK, SO YOON

74 Agente/Representante:

SALVÀ FERRER, Joan

ES 2 723 952 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento de cribado de agente antimicrobiano

5 **ANTECEDENTES****(a) Campo técnico**

10 **[0001]** La presente invención se refiere a un procedimiento para cribar un agente antimicrobiano que es capaz de controlar microorganismos que pueden causar olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire y un procedimiento para eliminar olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire.

(b) Técnica anterior

15 **[0002]** El aire limpio está reconocido como un componente integral en la salud y el bienestar humano y el aire maloliente o contaminado impide un ambiente placentero. Por ejemplo, una calidad de aire en interiores no satisfactoria en una condición hermética es ocasionada por dos factores importantes. Uno son los contaminantes del aire generados de la propia estructura (edificio o vehículo) que constituye el ambiente hermético y el otro es el olor generado por actividades humanas o de materiales introducidos desde el exterior.

20 **[0003]** Un sistema de acondicionamiento de aire que se usa en edificios, vehículos, trenes, recipientes, aeroplanos y similares se refiere a un sistema diseñado para reducir la temperatura interior y optimizar el ambiente de interiores con el propósito de acondicionar la temperatura, la humedad, el caudal y la limpieza del aire. Con la mejora en el estándar de vida, el uso del sistema de acondicionamiento de aire ha aumentado gradualmente. Aunque ha habido muchas mejoras en la función básica del sistema de acondicionamiento de aire, aún existen muchos problemas a solucionar en el aspecto ambiental para la calidad del aire en interiores.

25 **[0004]** Se ha sabido que la causa del olor del sistema de acondicionamiento de aire, particularmente un aire acondicionado, son los metabolitos producidos por mohos y bacterias. Sin embargo, aún no se han identificado específicamente los tipos de mohos y bacterias, y las sustancias y la cantidad producida por los mohos y las bacterias.

30 **[0005]** En un sistema de acondicionamiento de aire, todo el aire que ha pasado a través de un ventilador pasa a un núcleo de evaporador. Durante el intercambio de calor entre un refrigerante frío y el aire, tiene lugar la condensación de agua sobre la superficie del núcleo de evaporador debido a la diferencia de temperaturas. Cuando continúa la condensación del agua, se crea un ambiente favorable para que vivan y proliferen mohos y bacterias sobre el núcleo de evaporador. Si proliferan mohos y bacterias sobre el núcleo de evaporador expuesto al aire externo, se producen compuestos orgánicos volátiles microbianos (mVOC) como metabolitos por los microorganismos. Por lo tanto, cuando el aire que ha pasado a través del núcleo de evaporador es soplado hacia los interiores, el interior puede exponerse a un olor desagradable debido a los compuestos orgánicos volátiles producidos por los mohos y las bacterias después de un uso a largo plazo.

35 **[0006]** Después del uso a largo plazo, la superficie del núcleo del evaporador se cubre con una biopelícula que incluye bacterias, grupos de células y sustancias poliméricas extracelulares (EPS). Las EPS incluyen diversos componentes tales como proteínas, polisacáridos, ácidos poliurónicos, ácidos nucleicos, lípidos y similares. Sobre la superficie del núcleo del evaporador, proliferan diversas bacterias y mohos que usan la biopelícula como nutrientes y producen diversos compuestos orgánicos volátiles microbianos (mVOC) como metabolitos, que se sabe que son la causa del mal olor del acondicionador de aire.

40 **[0007]** Aunque están comercialmente disponibles diversos tipos de ambientadores para eliminar dicho olor desagradable, fundamentalmente no eliminan el moho y las bacterias que proliferan sobre el núcleo del evaporador sino que simplemente diluyen temporalmente el olor desagradable. Además, los agentes antimicrobianos que están comercialmente disponibles en la actualidad no han sido desarrollados para actuar específicamente en la proliferación de mohos y bacterias sobre el núcleo del evaporador sino que se han utilizado porque tienen efectos antimicrobianos contra patógenos comunes. El documento WO 02/27018 A2 se refiere a un procedimiento novedoso para identificar compuestos capaces de afectar a una actividad biológica microbiana, tal como la formación, el desarrollo y la disolución de biopelículas. El procedimiento incluye: (a) obtener sobrenadante de un sistema de cultivo cerrado que contiene al menos un tipo de microorganismo; (b) exponer un organismo objetivo al sobrenadante o un extracto del mismo; y (c) medir el nivel de la actividad biológica. Simmons y col. informan sobre la aparición y persistencia de biopelículas mixtas en sistemas de acondicionamiento de automóvil (Current Microbiology, volumen 39, edición 3, páginas 8777-8793, 55 1999). Diekmann y col. informan sobre las comunidades microbianas relacionadas con la emisión de compuestos orgánicos volátiles en unidades de acondicionamiento de aire de automóvil (Applied Microbiology and Biotechnology, volumen 97, edición 19, páginas 8777-8793, 2013). El documento WO 96/14882 A1 se refiere a un sistema de acondicionamiento de aire automático que comprende un evaporador de acondicionamiento de aire, un calentador, un soplador y un conducto caracterizado porque el material plástico del alojamiento, la almohadilla bien cerrada y la 60 almohadilla de revestimiento del evaporador de acondicionamiento de aire, la almohadilla de la puerta del alojamiento

del calentador, el ventilador soplador y la almohadilla de revestimiento del soplador y el conducto se moldean mezclando el compuesto antimicrobiano seleccionado de isotiazolinas y oxibisfenoxarsinas, y el material de aluminio del núcleo de dicho núcleo del evaporador de acondicionamiento de aire se trata de manera antimicrobiana mediante el recubrimiento del agente colorante hidrófilo mezclado con la composición antimicrobiana de paraclorometa xilenol.

5 **[0008]** Por consiguiente, existe la necesidad urgente del desarrollo de un agente antimicrobiano que pueda crear un ambiente de aire de interior agradable que específicamente inhiba o evite la proliferación de mohos y bacterias sobre el núcleo del evaporador y un procedimiento para eliminar el olor desagradable utilizando el mismo.

10 **[0009]** La anterior descripción de la técnica anterior solo tiene como objetivo mejorar el entendimiento de los antecedentes de la presente invención y no debe considerarse como el reconocimiento de que las tecnologías descritas anteriormente se conocen por los expertos en el campo técnico a los que va dirigida la presente invención.

RESUMEN

15 **[0010]** Los inventores de la presente invención han hecho esfuerzos para hallar un procedimiento para controlar eficazmente microorganismos que proliferan en un sistema de acondicionamiento de aire y que causan olores desagradables. Como resultado, los inventores han cribado con éxito 12 especies de microorganismos que proliferan en un sistema de acondicionamiento de aire, forman una biopelícula y causan un olor desagradable y se ha confirmado
20 que el olor desagradable del sistema de acondicionamiento de aire puede inhibirse significativamente controlándolos. La invención se define por las reivindicaciones adjuntas.

[0011] Se describe un procedimiento para cribar un agente antimicrobiano contra un microorganismo que causa un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire, que se selecciona del grupo que consiste en
25 *Microbacterium trichothecenolyticum*, *Microbacterium flavescens*, *Methylobacterium dankookense*, *Methylobacterium phyllosphaerae*, *Methylobacterium tardum*, *Methylobacterium radiotolerans*, *Sphingomonas dokdonensis*, *Sphingomonas ginsenosidimutans*, *Sphingomonas humi*, *Sphingomonas melonis*, *Staphylococcus hominis subsp. hominis* y *Staphylococcus warneri*.

30 **[0012]** También se describe un microorganismo que causa un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire.

[0013] También se describe un procedimiento para inhibir el crecimiento de un microorganismo que causa un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire, que incluye recubrir o rociar un agente antimicrobiano
35 en un sistema de acondicionamiento de aire.

[0014] También se describe un procedimiento para eliminar el olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire, que incluye separar o eliminar un microorganismo que causa un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire.

40 **[0015]** También se describe un procedimiento para eliminar el olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire, que incluye inhibir el crecimiento de un microorganismo que causa un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire.

45 **[0016]** Otras características y aspectos de la presente invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada, los dibujos y las reivindicaciones.

[0017] Se describe un procedimiento para cribar un agente antimicrobiano contra un microorganismo que causa un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire, que incluye:

50 (a) preparar uno o más microorganismos que causan un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire y se seleccionan del grupo que consiste en *Microbacterium trichothecenolyticum*, *Microbacterium flavescens*, *Methylobacterium dankookense*, *Methylobacterium phyllosphaerae*, *Methylobacterium tardum*, *Methylobacterium radiotolerans*, *Sphingomonas dokdonensis*, *Sphingomonas ginsenosidimutans*, *Sphingomonas humi*, *Sphingomonas melonis*, *Staphylococcus hominis subsp. hominis* y *Staphylococcus warneri* o un cultivo de los mismos;

(b) poner en contacto una muestra a analizar con el microorganismo;

(c) medir la inhibición del crecimiento del microorganismo o la disminución en la generación del olor desagradable; y

60 (d) determinar que la muestra tiene actividad antimicrobiana contra el microorganismo cuando se inhibe el crecimiento del microorganismo o disminuye la generación de olor desagradable.

[0018] Se describen 12 especies de microorganismos cribadas con éxito que proliferan en un sistema de
65 acondicionamiento de aire, mientras se forma una biopelícula y causan un olor desagradable y se ha confirmado que

el olor desagradable del sistema de acondicionamiento de aire puede inhibirse significativamente controlándolos.

[0019] En la presente descripción, el término «sistema de acondicionamiento de aire» se refiere a un sistema que mantiene una temperatura, humedad, limpieza, flujo, y similares, agradables del aire en el interior de un espacio que está completamente o parcialmente aislado del ambiente externo. Como un ejemplo específico, el espacio aislado puede ser un espacio interior que está completamente o parcialmente aislado del exterior, tal como en el interior de un edificio, vehículo, barco, avión, y similares. Como un ejemplo específico, el sistema de acondicionamiento de aire puede ser un acondicionador de aire.

10 **[0020]** En un sistema de acondicionamiento de aire, todo el aire que ha pasado a través de un ventilador pasa a un núcleo de evaporador. Sobre la superficie del núcleo del evaporador, se crea un ambiente favorable para el crecimiento de microorganismos como condensación de agua debido a las continuas diferencias de temperatura. Como resultado, con el tiempo se forma una biopelícula. Los microorganismos metabolizan diversas sustancias que flotan en el aire en interiores o exteriores como nutrientes y producen diversos compuestos orgánicos volátiles
15 microbianos (mVOC) como metabolitos, los cuales proporcionan un olor desagradable.

[0021] La biopelícula es un grupo de microorganismos vivientes envueltos en una membrana. La membrana protege a los microorganismos del ambiente externo y proporciona nutrientes. La membrana incluye sustancias poliméricas extracelulares (EPS), que incluyen diversos componentes tales como proteínas, polisacáridos, ácidos poliurónicos, ácidos nucleicos, lípidos, y similares. Sobre la superficie del núcleo del evaporador, proliferan una diversidad de microorganismos que las utilizan como nutrientes y producen metabolitos que proporcionan un olor desagradable.

[0022] Se describe que se han seleccionado microorganismos que causan un olor desagradable del núcleo del evaporador y, a través de cultivo, han aislado cepas dominantes de los microorganismos que forman colonias. Las cepas dominantes pueden aislarse y cultivarse según diversos procedimientos conocidos en la técnica relacionada y pueden criarse, por ejemplo, basándose en relaciones de dilución o características morfológicas tales como color, tamaño, forma, y similares, de las colonias.

30 **[0023]** Los microorganismos dominantes incluyen microorganismos en el género *Microbacterium*, *Methylobacterium*, *Sphingomonas* o *Staphylococcus*, preferentemente dos especies en el género *Microbacterium* (*Microbacterium trichothecenolyticum* o *Microbacterium flavescens*), cuatro especies en el género *Methylobacterium* (*Methylobacterium dankookense*, *Methylobacterium phyllosphaerae*, *Methylobacterium tardum* o *Methylobacterium radiotolerans*), cuatro especies en el género *Sphingomonas* (*Sphingomonas dokdonensis*, *Sphingomonas ginsenosidimitans*, *Sphingomonas humi* o *Sphingomonas melonis*) o dos especies en el género *Staphylococcus* (*Staphylococcus hominis subsp. hominis* o *Staphylococcus warneri*).

[0024] Estos microorganismos se depositaron el 26 de febrero de 2013 en el Korean Culture Center of Microorganisms y se les proporcionó los siguientes números de acceso: *Microbacterium trichothecenolyticum* HKMC-112 (número de acceso: KCCM11395P), *Microbacterium flavescens* HKMC-104 (número de acceso: KCCM11387P), *Methylobacterium dankookense* HKMC-101 (número de acceso: KCCM11384P), *Methylobacterium phyllosphaerae* HKMC-102 (número de acceso: KCCM11385P), *Methylobacterium tardum* HKMC-103 (número de acceso: KCCM11386P), *Methylobacterium radiotolerans* HKMC-111 (número de acceso: KCCM11394P), *Sphingomonas dokdonensis* HKMC-105 (número de acceso: KCCM11388P), *Sphingomonas ginsenosidimitans* HKMC-106 (número de acceso: KCCM11389P), *Sphingomonas humi* HKMC-107 (número de acceso: KCCM11390P), *Sphingomonas melonis* HKMC-108 (número de acceso: KCCM11391P), *Staphylococcus hominis subsp. hominis* HKMC-109 (número de acceso: KCCM11392P) y *Staphylococcus warneri* HKMC-110 (número de acceso: KCCM11393P).

[0025] Los microorganismos que causan un olor desagradable son industrialmente aplicables para diversos propósitos. Por ejemplo, pueden usarse para desarrollar un agente antimicrobiano novedoso capaz de inhibir el crecimiento de los microorganismos o desarrollar un ambientador para eliminar el olor desagradable identificando las propiedades químicas de los metabolitos de los microorganismos. Además, pueden usarse para eliminar fundamentalmente la causa del olor desagradable proporcionando un sistema de acondicionamiento de aire con un ambiente donde los microorganismos no pueden vivir.

55 **[0026]** La muestra utilizada en el procedimiento para cribar un agente antimicrobiano de la presente descripción es uno para determinar si tiene actividad antimicrobiana contra los microorganismos. Por ejemplo, si una muestra particular tiene actividad antimicrobiana contra *Methylobacterium dankookense*, la muestra puede cribarse como un agente antimicrobiano contra *Methylobacterium dankookense*.

60 **[0027]** El agente antimicrobiano cribado por el procedimiento de cribado de la presente descripción puede tener actividad antimicrobiana contra uno o más seleccionados del grupo que consiste en *Microbacterium trichothecenolyticum*, *Microbacterium flavescens*, *Methylobacterium dankookense*, *Methylobacterium phyllosphaerae*, *Methylobacterium tardum*, *Methylobacterium radiotolerans*, *Sphingomonas dokdonensis*, *Sphingomonas ginsenosidimitans*, *Sphingomonas humi*, *Sphingomonas melonis*, *Staphylococcus hominis subsp. hominis* y
65 *Staphylococcus warneri*.

Staphylococcus warneri. Puede tener actividad antimicrobiana adicional contra otras especies de microorganismos.

5 **[0028]** Por ejemplo, algún agente antimicrobiano puede tener actividad antimicrobiana contra las 12 especies de microorganismos y otro agente antimicrobiano puede no tener ninguna actividad antimicrobiana contra una o más de las especies. Además, el agente antimicrobiano que tiene actividad antimicrobiana contra las 12 especies de microorganismos puede tener diferente actividad antimicrobiana contra diferentes microorganismos (véanse las Tablas 8 y 9).

10 **[0029]** El agente antimicrobiano cribado por el procedimiento de cribado de la presente descripción puede tener actividad antimicrobiana contra uno o más seleccionados del grupo que consiste en *Microbacterium trichothecenolyticum* HKMC-112 (número de acceso: KCCM11395P), *Microbacterium flavescens* HKMC-104 (número de acceso: KCCM11387P), *Methylobacterium dankookense* HKMC-101 (número de acceso: KCCM11384P), *Methylobacterium phyllosphaerae* HKMC-102 (número de acceso: KCCM11385P), *Methylobacterium tardum* HKMC-103 (número de acceso: KCCM11386P), *Methylobacterium radiotolerans* HKMC-111 (número de acceso: KCCM11394P), *Sphingomonas dokdonensis* HKMC-105 (número de acceso: KCCM11388P), *Sphingomonas ginsenosidimutans* HKMC-106 (número de acceso: KCCM11389P), *Sphingomonas humi* HKMC-107 (número de acceso: KCCM11390P), *Sphingomonas melonis* HKMC-108 (número de acceso: KCCM11391P), *Staphylococcus hominis subsp. hominis* HKMC-109 (número de acceso: KCCM11392P) y *Staphylococcus warneri* HKMC-110 (número de acceso: KCCM11393P).

20 **[0030]** Se describe que la muestra a cribar incluye un solo compuesto, una mezcla de compuestos, un extracto animal o vegetal, un agente biológico que contiene información genética, tal como un nucleótido, un polipéptido, y similares, y una mezcla de compuesto y agente biológico.

25 **[0031]** Se describe un microorganismo que causa un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire.

30 **[0032]** El microorganismo que causa un olor desagradable puede ser *Microbacterium trichothecenolyticum*, más preferentemente *Microbacterium trichothecenolyticum* HKMC-112 depositado con un número de acceso KCCM11395P.

[0033] El microorganismo que causa un olor desagradable puede ser *Microbacterium flavescens*, más preferentemente *Microbacterium flavescens* HKMC-104 depositado con un número de acceso KCCM11387P.

35 **[0034]** El microorganismo que causa un olor desagradable puede ser *Methylobacterium dankookense*, más preferentemente *Methylobacterium dankookense* HKMC-101 depositado con un número de acceso KCCM11384P.

40 **[0035]** El microorganismo que causa un olor desagradable puede ser *Methylobacterium phyllosphaerae*, más preferentemente *Methylobacterium phyllosphaerae* HKMC-102 depositado con un número de acceso KCCM11385P.

[0036] El microorganismo que causa un olor desagradable puede ser *Methylobacterium tardum*, más preferentemente *Methylobacterium tardum* HKMC-103 depositado con un número de acceso KCCM11386P.

45 **[0037]** El microorganismo que causa un olor desagradable puede ser *Methylobacterium radiotolerans*, más preferentemente *Methylobacterium radiotolerans* HKMC-111 depositado con un número de acceso KCCM11394P.

[0038] El microorganismo que causa un olor desagradable puede ser *Sphingomonas dokdonensis*, más preferentemente *Sphingomonas dokdonensis* HKMC-105 depositado con un número de acceso KCCM11388P.

50 **[0039]** El microorganismo que causa un olor desagradable puede ser *Sphingomonas ginsenosidimutans*, más preferentemente *Sphingomonas ginsenosidimutans* HKMC-106 depositado con un número de acceso KCCM11389P.

[0040] El microorganismo que causa un olor desagradable puede ser *Sphingomonas humi*, más preferentemente *Sphingomonas humi* HKMC-107 depositado con un número de acceso KCCM11390P.

55 **[0041]** El microorganismo que causa un olor desagradable puede ser *Sphingomonas melonis*, más preferentemente *Sphingomonas melonis* HKMC-108 depositado con un número de acceso KCCM11391P.

60 **[0042]** El microorganismo que causa un olor desagradable puede ser *Staphylococcus hominis subsp. hominis*, más preferentemente *Staphylococcus hominis subsp. hominis* HKMC-109 depositado con un número de acceso KCCM11392P.

[0043] El microorganismo que causa un olor desagradable puede ser *Staphylococcus warneri*, más preferentemente *Staphylococcus warneri* HKMC-110 depositado con un número de acceso KCCM11393P.

65

[0044] Se describe un procedimiento para inhibir el crecimiento de un microorganismo que causa un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire, que incluye recubrir o rociar el agente antimicrobiano en un sistema de acondicionamiento de aire.

5 **[0045]** El agente antimicrobiano que puede usarse puede ser cualquier agente antimicrobiano que se determina o puede determinarse que tiene actividad antimicrobiana contra uno o más microorganismos seleccionados del grupo que consiste en *Microbacterium trichothecenolyticum*, *Microbacterium flavescens*, *Methylobacterium dankookense*, *Methylobacterium phyllosphaerae*, *Methylobacterium tardum*, *Methylobacterium radiotolerans*, *Sphingomonas dokdonensis*, *Sphingomonas ginsenosidimutans*, *Sphingomonas humi*, *Sphingomonas melonis*, *Staphylococcus*
 10 *hominis* subsp. *hominis* y *Staphylococcus warneri*, o contra microorganismos que comprenden al menos uno de los microorganismos enumerados anteriormente. El agente antimicrobiano puede recubrirse o rociarse en un sistema de acondicionamiento de aire para inhibir el crecimiento de uno o más microorganismos que causan un olor desagradable, que se seleccionan del grupo que consiste en *Microbacterium trichothecenolyticum*, *Microbacterium flavescens*, *Methylobacterium dankookense*, *Methylobacterium phyllosphaerae*, *Methylobacterium tardum*, *Methylobacterium radiotolerans*, *Sphingomonas dokdonensis*, *Sphingomonas ginsenosidimutans*, *Sphingomonas humi*, *Sphingomonas melonis*, *Staphylococcus*
 15 *hominis* subsp. *hominis* y *Staphylococcus warneri*, o el crecimiento de microorganismos que comprenden al menos uno de los microorganismos enumerados anteriormente. El agente antimicrobiano puede recubrirse o rociarse de diversas formas conocidas en la técnica, tales como gas, líquido, gel, suspensión, y similares.

20 **[0046]** El recubrimiento o rociado puede realizarse parcialmente o completamente sobre la superficie interna o los componentes internos del sistema de acondicionamiento de aire. Preferentemente, el recubrimiento o rociado puede realizarse sobre un núcleo de evaporador en el sistema de acondicionamiento de aire. El recubrimiento o rociado puede realizarse después de que se selecciona uno o más microorganismos seleccionados del grupo que consiste en *Microbacterium trichothecenolyticum*, *Microbacterium flavescens*, *Methylobacterium dankookense*,
 25 *Methylobacterium phyllosphaerae*, *Methylobacterium tardum*, *Methylobacterium radiotolerans*, *Sphingomonas dokdonensis*, *Sphingomonas ginsenosidimutans*, *Sphingomonas humi*, *Sphingomonas melonis*, *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* y *Staphylococcus warneri*, o el microorganismo que comprende al menos uno de los microorganismos enumerados anteriormente ha formado una biopelícula o antes de que uno o más microorganismos seleccionados del grupo que consiste en *Microbacterium trichothecenolyticum*, *Microbacterium flavescens*,
 30 *Methylobacterium dankookense*, *Methylobacterium phyllosphaerae*, *Methylobacterium tardum*, *Methylobacterium radiotolerans*, *Sphingomonas dokdonensis*, *Sphingomonas ginsenosidimutans*, *Sphingomonas humi*, *Sphingomonas melonis*, *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* y *Staphylococcus warneri* o un microorganismo que comprende al menos uno de los microorganismos enumerados arriba formen una biopelícula.

35 **[0047]** El núcleo de evaporador puede hacerse de cualquier material. Preferiblemente, el núcleo de evaporador puede hacerse de aluminio, una aleación de aluminio, cobre o una aleación de cobre.

[0048] Se describe un procedimiento para eliminar un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire, que incluye recubrir o rociar el agente antimicrobiano en un sistema de acondicionamiento de aire.

40 **[0049]** El recubrimiento o rociado puede realizarse para eliminar todo o parte del olor desagradable o evitar un olor desagradable antes de que se genere un olor desagradable.

[0050] Diversos microorganismos proliferan en un sistema de acondicionamiento de aire. Estos
 45 microorganismos pueden clasificarse en su mayoría en microorganismos que causan un olor desagradable y microorganismos que no causan un olor desagradable. Por consiguiente, si el agente antimicrobiano actúa específicamente solo sobre los microorganismos que causan un olor desagradable o tiene actividad inhibitoria contra el crecimiento de todas o algunas de las especies dominantes de los microorganismos que causan un olor desagradable, el olor desagradable del sistema de acondicionamiento de aire puede mejorarse parcial o
 50 completamente.

[0051] También se describe un procedimiento para eliminar un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire, que incluye separar o eliminar uno o más microorganismos que causan un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire, que se selecciona del grupo que consiste en
 55 *Microbacterium trichothecenolyticum*, *Microbacterium flavescens*, *Methylobacterium dankookense*, *Methylobacterium phyllosphaerae*, *Methylobacterium tardum*, *Methylobacterium radiotolerans*, *Sphingomonas dokdonensis*, *Sphingomonas ginsenosidimutans*, *Sphingomonas humi*, *Sphingomonas melonis*, *Staphylococcus hominis* subsp. *hominis* y *Staphylococcus warneri*.

60 **[0052]** El microorganismo o el microorganismo que comprende al menos uno de los microorganismos enumerados arriba puede separarse o eliminarse parcialmente o completamente por medio de un procedimiento físico, químico o biológico. El procedimiento físico puede ser uno que separa artificialmente o aniquila el microorganismo o el microorganismo que comprende al menos uno de los microorganismos enumerados anteriormente utilizando un aparato físico. El procedimiento químico puede ser uno que separa o aniquila el microorganismo o el microorganismo
 65 que comprende al menos uno de los microorganismos enumerados arriba utilizando un agente antimicrobiano o un

esterilizador contra el microorganismo. El procedimiento biológico puede ser uno que separa o aniquila el microorganismo usando un agente biológico el cual es tóxico para el microorganismo o utilizando otro microorganismo que compite con el microorganismo por supervivencia. Sin embargo, la presente invención no está limitada por estos ejemplos.

5

[0053] Se describe un procedimiento para eliminar un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire, que incluye inhibir el crecimiento de uno o más microorganismos que causan un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire, que se selecciona del grupo que consiste en *Microbacterium trichothecenolyticum*, *Microbacterium flavescens*, *Methylobacterium dankookense*, *Methylobacterium phyllosphaerae*,
10 *Methylobacterium tardum*, *Methylobacterium radiotolerans*, *Sphingomonas dokdonensis*, *Sphingomonas ginsenosidimutans*, *Sphingomonas humi*, *Sphingomonas melonis*, *Staphylococcus hominis subsp. hominis* y *Staphylococcus warneri*.

[0054] Las características y ventajas de la presente descripción pueden resumirse de la siguiente manera:

15

(i) La presente invención proporciona un microorganismo que causa un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire.

(ii) La presente invención también proporciona un procedimiento para seleccionar un agente antimicrobiano que es
20 capaz de controlar el microorganismo.

(iii) Además, la presente invención proporciona un procedimiento para eliminar un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire controlando el microorganismo.

25 (iv) El microorganismo que ocasiona un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire de la presente invención puede usarse para desarrollar un antimicrobiano novedoso o desarrollar un desodorante de aire para

eliminar el olor desagradable identificando las propiedades químicas de los metabolitos de los microorganismos. Además, puede usarse para eliminar fundamentalmente la causa del olor desagradable proporcionando un sistema
30 de acondicionamiento de aire con un ambiente donde el microorganismo no puede vivir.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

[0055]

35 La Figura 1 muestra una muestra tomada de un núcleo de evaporador de un vehículo usado que desprende un olor desagradable.

La Figura 2 muestra un procedimiento de prueba de la actividad antimicrobiana según la presente invención.

40 La Figura 3 muestra una combinación de microorganismos inodoros dominantes cultivados sobre una aleta de aluminio, en la que el aluminio es un material de un núcleo de evaporador.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

45 **[0056]** La presente invención se describirá más detalladamente mediante ejemplos. Los siguientes ejemplos tienen solo un propósito ilustrativo y será evidente para los expertos en la técnica que el alcance de esta invención no está limitado por los ejemplos.

Ejemplos

50

Ejemplo 1: Cribado de microorganismos dominantes que causan un olor desagradable

1. Preparación de vehículos usados que despiden un olor desagradable y separación del sistema de
acondicionamiento de aire

55

[0057] Con el fin de identificar la causa del olor desagradable generado en un ambiente hermético tal como en el interior de un vehículo, se separaron sistemas de acondicionamiento de aire de 10 vehículos usados que despiden olor desagradable en diferentes estaciones (invierno:

60 febrero-marzo, verano: junio-julio). Después, se tomaron muestras de los núcleos de evaporador que se esperó tuvieran biopelículas formadas en los mismos mediante microorganismos que causan un olor desagradable en los sistemas de acondicionamiento de aire (Tabla 1).

Tabla 1

N.º	Kilometraje	Estación
1	89.000 km	Invierno (febrero-marzo)
2	70.000 km	
3	10.300 km	
4	37.100 km	
5	149.970 km	
6	35.000 km	Verano (junio-julio)
7	28.000 km	
8	42.000 km	
9	110.000 km	
10	90.000 km	

2. Preparación de muestras de núcleos de evaporador

[0058] Los núcleos de evaporador separados de los vehículos usados 1-10 que desprenden olor desagradable se almacenaron a una temperatura de 4 °C antes de utilizar las muestras de núcleo de evaporador y se sellaron en bolsas de polietileno. Con el fin de aislar y cultivar microorganismos, se tomaron 5 g de una muestra de partes aleatorias de cada núcleo de evaporador, incluyendo las superficies frontal y posterior, usando un alicate de punta larga (Figura 1) esterilizados.

10 3. Aislamiento de microorganismos

[0059] Los microorganismos se aislaron de la muestra tomada del núcleo de evaporador de la siguiente manera:

- 15 1) La muestra tomada del núcleo del evaporador se mezcla y coloca en un mezclador.
- 2) Se añadieron al mezclador 200 ml de una solución salina tamponada con fosfato 1x (PBS) esterilizada.
- 3) La muestra mezclada y la PBS se mezclaron durante 30 segundos.
- 20 4) El mezclador se dejó sobre hielo durante 1 minuto.
- 5) Las etapas 3) y 4) se repitieron dos veces más.
- 25 6) La suspensión resultante se centrifugó a una temperatura de 4 °C durante 3 minutos a 13000 rpm.
- 7) Solo se tomó el sobrenadante y se transfirió a un tubo nuevo.
- 8) La superficie del núcleo de evaporador del que se tomó la muestra se limpió varias veces con un hisopo de algodón esterilizado empapado con el sobrenadante.
- 30 9) La cabeza del hisopo de algodón se colocó en el sobrenadante y después se agitó verticalmente.
- 10) El precipitado obtenido en la etapa 6) y la mezcla obtenida en la etapa 9) se mezclaron y se usaron como una solución de inoculación.
- 35

[0060] Los microorganismos se aislaron físicamente de los núcleos de evaporador de los vehículos 1-10 a través de las etapas 1)-10).

40 4. Aislamiento de microorganismos que causan un olor desagradable y cribado de especies dominantes

[0061] Se aislaron bacterias heterótrofas aerobias, usualmente denominadas bacterias normales, del acondicionador de aire mediante el cultivo sobre una placa heterótrofa. Se aislaron bacterias normales mediante cultivo a una temperatura de 28-30 °C durante 14 días utilizando medio de agar de PTYG y medio de agar R2A como medios de nutrientes complejos. El medio de agar de PTYG se preparó añadiendo 0,25 g de peptona (Difco), 0,25 g de triptona (Difco), 0,5 g de extracto de levadura (Difco), 0,5 g de glucosa (Difco), 30 mg de MgSO₄ (Sigma), 3 mg de CaCl₂

(Sigma) y 15 g de agar de Bacto (Difco) a 980 ml de agua destilada y esterilizando a una temperatura de 121 °C durante 15 minutos a alta presión después de ajustar el pH a 7,0. El medio de agar R2A se preparó añadiendo 0,5 g de extracto de levadura (Difco), 0,5 g de proteosa peptona N.º 3 (Difco), 0,5 g de casaminoácidos (Difco), 0,5 g de dextrosa (Difco), 0,5 g de almidón soluble (Difco), 0,3 g de piruvato de sodio (Difco), 0,3 g de sulfato dipotásico (Difco), 5 0,05 g de sulfato de magnesio (Difco) y 15 g de agar de Bacto (Difco) a 980 ml de agua destilada y esterilizando a una temperatura de 121 °C durante 15 minutos a alta presión después de ajustar el pH a 7,2. Para el aislamiento de bacterias no dominantes, se prepararon medios antibióticos por inoculación de kanamicina, ampicilina o cloranfenicol a una temperatura de 50 °C después de filtrar-esterilizar los medios a una concentración de 100 ppm.

10 **[0062]** Las cepas dominantes se aislaron y se cultivaron basándose en relaciones de dilución o características morfológicas tales como el color, tamaño, forma, y similares, de las colonias, de la siguiente manera.

1) Se separaron mohos y bacterias de un medio de cultivo aislado.

15 2) Las bacterias que mostraron diferentes morfologías se separaron por inoculación a medios complejos utilizando un bucle.

3) De los medios inoculados, el cultivo bacteriano que mostró el mejor estado de crecimiento se seleccionó y se subcultivó.

20

4) Los mohos se inocularon con medios complejos después de eliminar las porciones terminales de las hifas usando un escalpelo.

5) De los medios inoculados, el cultivo de moho que mostró el mejor estado de crecimiento se seleccionó y se subcultivó.

25

5. Identificación de microorganismos dominantes

[0063] Para la identificación precisa de los microorganismos aislados, se realizó el análisis de ARNr 16s de la siguiente manera:

30

a) Obtención de huella basada en el análisis de patrones de REP-PCR

[0064] REP-PCR es una técnica de obtención de huella biológica molecular para análisis estructural de cromosomas bacterianos, que permite distinguir cada cepa bacteriana. Se analizaron características genéticas mediante REP-PCR de la siguiente manera.

35

(1) Lisis celular

40 **[0065]**

1) Se añadieron 2,5 µl de un reactivo PCR Lyse-N-Go (Thermo) a un tubo de PCR.

2) Se pipeteó una colonia sobre el tubo en un banco limpio. Durante la adición por pipeteo, se tuvo cuidado de que la solución resultante no se enturbiara.

45

3) El cultivo se realizó en una máquina de PCR según las instrucciones del fabricante.

(2) Reacción de PCR

50

[0066] Usando un reactivo de PCR preparado como se describe en la Tabla 2, se realizó la amplificación de PCR realizando una predesnaturalización a 93 °C durante 7 minutos y repitiendo 33 ciclos de desnaturalización a una temperatura de 92 °C durante 1 minuto, recociendo a 51,5 °C durante 1 minuto y extensión a una temperatura de 65 °C durante 8 minutos, como se describe en la Tabla 3.

55

Tabla 2

①	dNTP (2,5 mM cada vez)	12,5 µl
②	Tampón Gitschier	5,0 µl
③	DMSO (100 %)	2,5 µl
④	Autoescincido 3° D.W.	0,3 µl
⑤	Cebador BOXA1R (50 pmol/µl) 5'CTACGGCAAGGCGACGCTGACG	1,0 µl
⑥	BSA (10 mg/ml)	0,4 µl
⑦	ADN bacteriano	2,5 µl
⑧	Taq polimerasa (Roche) (5 U/µl)	0,8 µl

Tabla 3

Etapa 1	93 °C	7 min
Etapa 2	92 °C	1 min
Etapa 3	51,5 °C	1 min
Etapa 4	65 °C	8 min
Etapa 5	Etapas 2, 3 y 4: 33 ciclos adicionales	
Etapa 6	65 °C	16 min
Etapa 7	4 °C	

5 (3) Electroforesis en gel

[0067] Se cargaron fragmentos de ADN amplificados por PCR en gel de agarosa al 1,2-1,5 % complementado con EtBr después de mezclar un colorante 6x con la muestra a una relación de 1:5. Dado que la mayoría de los productos de PCR estuvieron en el intervalo de 100-1000 pb, estos se cargaron fuertemente con escaleras de 100 pb. Después se realizó la electroforesis tan lento como fue posible (50 V) de tal manera que los colorantes azul de bromofenol y xileno cianol se desplazaron a la mitad de todo el gel. Las cepas que mostraron el mismo patrón de ADN sobre gel se consideraron como cepas iguales.

15 **b) Identificación de bacterias dominantes del acondicionador de aire basándose en el análisis del gen ARNr 16S**

[0068] El gen de ácido ribonucleico ribosómico (ARNr) 16S se usa para identificación genética de bacterias. Las bacterias diferenciadas por REP-PCR pueden identificarse en los niveles de género y especie.

20 (1) Lisis celular

[0069]

1) Se añadieron 5 µl de un reactivo PCR Lyse-N-Go (Thermo) a un tubo de PCR.

25 2) Se pipeteó una colonia sobre el tubo en un banco limpio. La adición por pipeteo se realizó de tal manera que la solución resultante se enturbió ligeramente.

3) La lisis celular se realizó en una máquina de PCR según las instrucciones del fabricante (Tabla 4).

30

Tabla 4: Programa de lisis

Ciclo	Temperatura (°C)	Tiempo (segundos)
1	65	30
2	8	30
3	65	90
4	97	180

5	8	60
6	65	180

(2) PCR de ARNr 16S

[0070] Se añadió una mezcla (44,5 µl) de las soluciones descritas en la siguiente Tabla 5, excepto para ADN y Taq, a la solución de lisis descrita anteriormente (volumen total de 50 µl en la Tabla 5). Posteriormente, se realizó la amplificación de PCR realizando una predesnaturalización a 94 °C durante 5 minutos y repitiendo 29 ciclos de desnaturalización a una temperatura de 94 °C durante 1 minuto, recociendo a 55 °C durante 1 minuto y extensión a una temperatura de 72 °C durante 1 minutos y 30 segundos, como se describe en la Tabla 6.

10

Tabla 5

Autoescincido 3° D.W.	22 µl
Tampón 10x (Roche)	5 µl
dNTP (Roche, 2,5 mM)	5 µl
DMSO	5 µl
BSA (10 mg/ml)	2,5 µl
27mf (20 pmol/µl)	2,5 µl
1492r (20 pmol/µl)	2,5 µl
ADN	5 µl
Taq (Roche)	0,5 µl

Tabla 6

Etapa 1	94 °C	5 min
Etapa 2	94 °C	1 min
Etapa 3	55 °C	1 min
Etapa 4	72 °C	1 min 30 s
Etapa 5	Ir a la etapa 2: 29 ciclos adicionales	
Etapa 6	72 °C	10 min
Etapa 7	4 °C	mantenimiento

(3) Purificación por PCR

15

[0071] Se purificaron productos de PCR de ARNr 16S usando un kit de purificación por PCR QIAquick de la siguiente manera.

- 1) Los productos de PCR se añadieron a 5x de tampón de PB.
- 2) La solución resultante se transfirió a una columna de QIAquick.
- 3) Para la unión de ADN, la solución se centrifugó durante 1 minuto, y después se eliminó la solución filtrada.
- 4) Para el lavado, se añadieron 750 µl de tampón de PE a la columna de QIAquick y se realizó la centrifugación durante 1 minuto, y después se eliminó la solución filtrada.
- 5) Se realizó la centrifugación durante 1 minuto.
- 6) La columna de QIAquick se transfirió a un nuevo tubo.
- 7) Para la extracción de ADN, se añadieron 30 µl de tampón de EB y la solución resultante se dejó en reposo durante 1 minuto.

8) Después de realizar la centrifugación durante 1 minuto, el ADN disuelto en EB se recogió en un tubo.

[0072] Con el fin de observar si los microorganismos aislados desprendían olor desagradable, se realizó una evaluación sensorial de la siguiente manera.

- 1) Los microorganismos aislados se inocularon en un medio de nutrientes líquido.
- 2) Se realizó el cultivo a una temperatura de 28 °C durante 5-7 días.
- 10 3) Se inocularon 100 µl de los microorganismos en el medio líquido a un medio de nutrientes sólido.
- 4) Los microorganismos inoculados se extendieron uniformemente usando un esparcidor.
- 15 5) Los microorganismos se cultivaron sobre una placa de Petri sellada a una temperatura de 28 °C durante 10 días.

[0073] Los microorganismos dominantes que causan un olor desagradable se cribaron por 7 panelistas basándose en el promedio de la evaluación sensorial en una escala de 5 puntos. Se identificaron un total de 12 especies dominantes a través del análisis de ARNr 16S, como se muestra en la siguiente Tabla 7, y se depositaron en el Korean Culture Center of Microorganisms el 26 de febrero de 2013.

Tabla 7: Números de acceso de 12 microorganismos dominantes que causan un olor desagradable

N.º	N.º identificación	Nombre	N.º acceso
1	HKMC-101	<i>Methylobacterium dankookense</i>	KCCM11384P
2	HKMC-102	<i>Methylobacterium phyllosphaerae</i>	KCCM11385P
3	HKMC-103	<i>Methylobacterium tardum</i>	KCCM11386P
4	HKMC-104	<i>Microbacterium flavescens</i>	KCCM11387P
5	HKMC-105	<i>Sphingomonas dokdonensis</i>	KCCM11388P
6	HKMC-106	<i>Sphingomonas ginsenosidimutans</i>	KCCM11389P
7	HKMC-107	<i>Sphingomonas humi</i>	KCCM 11390P
8	HKMC-108	<i>Sphingomonas melonis</i>	KCCM11391P
9	HKMC-109	<i>Staphylococcus hominis subsp. hominis</i>	KCCM11392P
10	HKMC-110	<i>Staphylococcus warneri</i>	KCCM11393P
11	HKMC-111	<i>Methylobacterium radiotolerans</i>	KCCM11394P
12	HKMC-112	<i>Microbacterium trichothecenolyticum</i>	KCCM11395P

Ejemplo 2: Evaluación de la actividad antimicrobiana del agente antimicrobiano frente a microorganismos seleccionados que causan un olor desagradable

1. Procedimiento experimental

[0074] Se evaluó la actividad antimicrobiana de diversos agentes antimicrobianos comercialmente disponibles frente a microorganismos dominantes seleccionados en el Ejemplo 1. Los agentes antimicrobianos ensayados son los siguientes:

Agente antimicrobiano A: desodorizante de telas adquirido de P&G Korea.

35 Agente antimicrobiano B: desinfectante de manos adquirido en Paru Corporation.

Agente antimicrobiano C: agente antimicrobiano producido en masa que contiene alcohol metílico al 45-50 %, sulfato de cromo al 1-5 % (CAS 10101-53-8), bromo al 1-5 % y agua.

40 Agente antimicrobiano D: agente antimicrobiano catiónico (Parkerizing, Japón).

Agente antimicrobiano E: agente antimicrobiano a base de isotiazolinona que contiene metilisotiazolinona (CAS 26172-55-4), bronopol (CAS 52-51-7), y similares. (Parkerizing, Japón).

[0075] La actividad antimicrobiana se evaluó de la siguiente manera:

- 1) Se preparó papel filtro esterilizado.
- 2) Se prepararon cinco agentes antimicrobianos (grupo de control: no tratado con agente antimicrobiano, grupos de ensayo: tratados con el agente antimicrobiano A, agente antimicrobiano B, agente antimicrobiano C, agente antimicrobiano D y agente antimicrobiano E).
- 3) Cada agente antimicrobiano se añadió al papel filtro.
- 4) Cada microorganismo que causa un olor desagradable se recubrió sobre un medio de nutrientes.
- 5) El papel filtro al que se añadió el agente antimicrobiano se colocó sobre el medio de nutrientes sobre el cual se recubrió el microorganismo que causa un olor desagradable.
- 6) El microorganismo se cultivó a una temperatura de 28-30 °C durante 5 días.
- 7) Se midió la zona de inhibición de crecimiento.

[0076] Se midió el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento usando un calibrador vernier como se muestra en la Figura 2.

2. Resultado experimental

[0077] El resultado de la medición del diámetro de la zona de inhibición de crecimiento para las 12 especies de microorganismos que causan un olor desagradable se muestra en la Tabla 8.

Tabla 8: Diámetro de la zona de inhibición de crecimiento (unidad: mm)

N.º	Microorganismo (Nombre de depósito)	Agente antimicrobiano					
		Ninguno	A	B	C	D	E
1	<i>Methylobacterium dankookense</i> HKMC-101	0	18,3	22,3	27,3	29,5	36,1
2	<i>Methylobacterium phyllosphaerae</i> HKMC-102	0	18,3	11,6	35,3	47,3	45,3
3	<i>Methylobacterium tardum</i> HKMC-103	0	0	0	0	43	38,3
4	<i>Microbacterium flavescens</i> HKMC-104	0	19,6	14	28	19,1	33,9
5	<i>Sphingomonas dokdonensis</i> HKMC-105	0	15	11,6	21,7	16,2	39,1
6	<i>Sphingomonas ginsenosidimutans</i> HKMC-106	0	0	11,3	17,6	21,8	31,1
7	<i>Sphingomonas humi</i> HKMC-107	0	11,6	14,3	22,5	19,1	36,1
8	<i>Sphingomonas melonis</i> HKMC-108	0	17	11	31,6	22,6	37,3
9	<i>Staphylococcus hominis subsp. hominis</i> HKMC-109	0	0	0	25,6	28,6	54
10	<i>Staphylococcus warneri</i> HKMC-110	0	0	0	33,3	17	38,6
11	<i>Methylobacterium radiotolerans</i> HKMC-111	0	17,6	0	23,3	28,1	31
12	<i>Microbacterium trichothecenolyticum</i> HKMC-112	0	19	18,3	20,6	18,5	32,3

[0078] Se comparó la actividad antimicrobiana del agente antimicrobiano (agente antimicrobiano D) y del agente antimicrobiano basado en isotiazolinona (agente antimicrobiano E) con la del agente antimicrobiano producido en masa (agente antimicrobiano C), y los resultados se muestran en la siguiente Tabla 9.

Tabla 9: Actividad antimicrobiana de agente antimicrobiano catiónico y agente antimicrobiano a base de isotiazolinona en comparación con la del agente antimicrobiano producido en masa

N.º	Microorganismo (Nombre de depósito)	Agente antimicrobiano	
		D	E
1	<i>Methylobacterium dankookense</i> HKMC-101	8,1 %	32,2 %
2	<i>Methylobacterium phyllosphaerae</i> HKMC-102	34 %	28,3 %
3	<i>Methylobacterium tardum</i> HKMC-103	43 %	38,3 %
4	<i>Microbacterium flavescens</i> HKMC-104	-31,8 %	21 %
5	<i>Sphingomonas dokdonensis</i> HKMC-105	-25,3 %	80,1 %
6	<i>Sphingomonas ginsenosidimutans</i> HKMC-106	23,8 %	76,7 %
7	<i>Sphingomonas humi</i> HKMC-107	-15,1 %	60,4 %
8	<i>Sphingomonas melonis</i> HKMC-108	-28,5 %	18 %
9	<i>Staphylococcus hominis subsp. hominis</i> HKMC-109	11,7 %	110,9 %
10	<i>Staphylococcus warneri</i> HKMC-110	-48,9 %	15,9 %
11	<i>Methylobacterium radiotolerans</i> HKMC-111	20,6 %	33 %
12	<i>Microbacterium trichothecenolyticum</i> HKMC-112	-10,2 %	56,8 %

[0079] Como se muestra en las Tablas 8 y 9 anteriores, el agente antimicrobiano A no mostró ninguna actividad antimicrobiana contra *Methylobacterium tardum*, *Sphingomonas ginsenosidimutans*, *Staphylococcus hominis subsp. hominis* y *Staphylococcus warneri*. Aunque el agente antimicrobiano B mostró actividad antimicrobiana contra *Sphingomonas ginsenosidimutans* a diferencia del agente antimicrobiano A, no mostró actividad antimicrobiana contra *Methylobacterium radiotolerans*.

[0080] Además, el agente antimicrobiano C no mostró actividad antimicrobiana contra *Methylobacterium tardum*. En contraste, los agentes antimicrobianos D y E mostraron actividad antimicrobiana contra todas las 12 especies de microorganismos. Sin embargo, el agente antimicrobiano D mostró menor actividad antimicrobiana contra *Microbacterium flavescens*, *Sphingomonas dokdonensis*, *Sphingomonas humi*, *Sphingomonas melonis*, *Staphylococcus warneri* y *Microbacterium trichothecenolyticum* en comparación con la del agente antimicrobiano C. Para los microorganismos que pertenecen al mismo género *Methylobacterium*, el agente antimicrobiano E mostró más actividad antimicrobiana específica contra *Methylobacterium dankookense* y *Methylobacterium radiotolerans* en comparación con el agente antimicrobiano D, y el agente antimicrobiano D mostró más actividad antimicrobiana específica contra *Methylobacterium phyllosphaerae* y *Methylobacterium tardum* en comparación con el agente antimicrobiano E. Es decir, los agentes antimicrobianos mostraron diferente actividad antimicrobiana contra diferentes microorganismos que pertenecen al mismo género.

Ejemplo 3: Evaluación del olor del núcleo de evaporador con eliminación de microorganismos que causan un olor desagradable

[0081] Con el fin de preparar un núcleo de evaporador de los cuales se retiraron o separaron microorganismos que causan un olor desagradable, se cultivaron combinaciones de microorganismos inodoros excluyendo los microorganismos que causan un olor desagradable del Ejemplo 1 de los microorganismos dominantes que habitan en el núcleo de evaporador sobre una aleta de aluminio, en la que el aluminio fue un material de un núcleo de evaporador (Tabla 10, Figura 3).

[0082] Las especies dominantes que formaron colonias sobre el núcleo de evaporador pero no causaron un olor desagradable se seleccionaron como los microorganismos inodoros y se cultivaron de la siguiente manera.

1) Los microorganismos inodoros aislados se inocularon en un medio R2A líquido.

2) Los microorganismos se cultivaron a una temperatura de 28 °C durante 5-7 días.

3) Se preparó una aleta de aluminio esterilizada a una temperatura de 121 °C durante 20 minutos a alta presión.

4) La superficie de la aleta de aluminio se recubrió uniformemente con cada agente antimicrobiano.

- 5) La aleta de aluminio recubierta se colocó en una placa de Petri.
- 6) Se centrifugó 1 ml del cultivo de microorganismos inodoro y se descartó el sobrenadante.
- 5 7) Después de añadir 1 ml de 1 x PBS esterilizado, la mezcla se centrifugó de nuevo.
- 8) La etapa 7) se repitió dos veces.
- 10 9) Se añadieron por goteo 100 µl del cultivo de microorganismos inodoros lavados con PBS sobre el centro de la aleta de aluminio.
- 10) La aleta de aluminio se secó a temperatura ambiente.
- 15 11) Después de sellar las placas de Petri, los microorganismos inodoros se cultivaron a una temperatura de 28 °C durante 1 mes.

[0083] Como resultado, se encontró que todas las combinaciones en la siguiente Tabla 10 no causaron un olor desagradable.

20

Tabla 10: Olor de los microorganismos que habitan en el núcleo de evaporador con microorganismos que causan un olor desagradable eliminados

N.º combinación	Microorganismos	Olor después del cultivo durante 1 mes
1	<i>Methylobacterium brachiatum</i>	Inodoro
2	<i>Methylobacterium platani</i>	Inodoro
3	<i>Methylobacterium aquaticum</i> + <i>Methylobacterium platani</i>	Inodoro
4	<i>Methylobacterium platani</i> + <i>Methylobacterium brachiatum</i>	Inodoro
5	<i>Methylobacterium aquaticum</i> + <i>Methylobacterium platani</i> + <i>Methylobacterium brachiatum</i>	Inodoro
6	<i>Methylobacterium aquaticum</i> + <i>Methylobacterium platani</i> + <i>Methylobacterium brachiatum</i> + <i>Acinetobacter johnsonii</i>	Inodoro
7	<i>Methylobacterium aquaticum</i> + <i>Methylobacterium platani</i> + <i>Methylobacterium brachiatum</i> + <i>Bacillus vietnamensis</i>	Inodoro
8	<i>Methylobacterium aquaticum</i> + <i>Methylobacterium platani</i> + <i>Methylobacterium brachiatum</i> + <i>Brevibacillus invocatus</i>	Inodoro
9	<i>Methylobacterium aquaticum</i> + <i>Methylobacterium platani</i> + <i>Methylobacterium brachiatum</i> + <i>Deinococcus ficus</i>	Inodoro
10	<i>Methylobacterium aquaticum</i> + <i>Methylobacterium platani</i> + <i>Methylobacterium brachiatum</i> + <i>Leifsonia soli</i>	Inodoro
11	<i>Methylobacterium aquaticum</i> + <i>Methylobacterium platani</i> + <i>Methylobacterium brachiatum</i> + <i>Methylobacterium komagatae</i>	Inodoro
12	<i>Methylobacterium aquaticum</i> + <i>Methylobacterium platani</i> + <i>Methylobacterium brachiatum</i> + <i>Pseudomonas nitroreducens</i>	Inodoro
13	<i>Methylobacterium aquaticum</i> + <i>Methylobacterium platani</i> + <i>Methylobacterium brachiatum</i> + <i>Sphingomonas aquatilis</i>	Inodoro
14	<i>Sphingomonas aquatilis</i> + <i>Brevibacillus invocatus</i>	Inodoro
15	<i>Leifsonia soli</i> + <i>Methylobacterium komagatae</i>	Inodoro
16	<i>Acinetobacter johnsonii</i> + <i>Sphingomonas aquatilis</i> + <i>Methylobacterium komagatae</i>	Inodoro

17	<i>Pseudomonas nitroreducens</i>	Inodoro
18	<i>Acinetobacter johnsonii</i> + <i>Pseudomonas nitroreducens</i>	Inodoro
19	<i>Brevibacillus invocatus</i> + <i>Acinetobacter johnsonii</i> + <i>Pseudomonas nitroreducens</i>	Inodoro
20	<i>Leifsonia soli</i> + <i>Pseudomonas nitroreducens</i>	Inodoro
21	<i>Brevibacillus invocatus</i> + <i>Sphingomonas aquatilis</i> + <i>Pseudomonas nitroreducens</i>	Inodoro
22	<i>Acinetobacter johnsonii</i> + <i>Sphingomonas aquatilis</i> + <i>Pseudomonas nitroreducens</i>	Inodoro
23	<i>Methylobacterium aquaticum</i> + <i>Methylobacterium komagatae</i> + <i>Bacillus vietnamensis</i> + <i>Deinococcus ficus</i>	Inodoro
24	<i>Methylobacterium aquaticum</i> + <i>Methylobacterium komagatae</i> + <i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> + <i>Deinococcus apachensis</i> + <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i>	Inodoro
25	<i>Methylobacterium aquaticum</i> + <i>Methylobacterium komagatae</i> + <i>Spirosoma linguale</i> + <i>Sphingomonas dokdonensis</i> + <i>Leifsonia soli</i>	Inodoro

[0084] A partir de la Tabla 10, puede observarse que el olor desagradable generado de un sistema de acondicionamiento de aire puede eliminarse significativamente eliminando química o físicamente los microorganismos que causan un olor desagradable de los microorganismos que habitan en el sistema de acondicionamiento de aire y proporcionando combinaciones de microorganismos que no causan un olor desagradable.

[0085] El microorganismo que causa un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire de la presente invención es industrialmente aplicable para diversos objetos. Por ejemplo, pueden usarse para desarrollar un agente antimicrobiano novedoso capaz de inhibir el crecimiento de los microorganismos o desarrollar un ambientador para eliminar el olor desagradable entendiendo las propiedades químicas de los metabolitos de los microorganismos. Además, pueden usarse para eliminar fundamentalmente la causa del olor desagradable proporcionando un sistema de acondicionamiento de aire con un ambiente donde los microorganismos no pueden vivir.

REIVINDICACIONES

1. Un procedimiento para cribar un agente antimicrobiano contra un microorganismo que causa un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire, que comprende:
- 5 (a) preparar uno o más microorganismos que causan un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire y se seleccionan del grupo que consiste en *Microbacterium trichothecenolyticum* HKMC-112 (número de acceso: KCCM11395P), *Microbacterium flavescens* HKMC-104 (número de acceso: KCCM11387P), *Methylobacterium dankookense* HKMC-101 (número de acceso: KCCM11384P), *Methylobacterium phyllosphaerae* HKMC-102 (número de acceso: KCCM11385P), *Methylobacterium tardum* HKMC-103 (número de acceso: KCCM11386P), *Methylobacterium radiotolerans* HKMC-111 (número de acceso: KCCM11394P), *Sphingomonas dokdonensis* HKMC-105 (número de acceso: KCCM11388P), *Sphingomonas ginsenosidimutans* HKMC-106 (número de acceso: KCCM11389P), *Sphingomonas humi* HKMC-107 (número de acceso: KCCM11390P), *Sphingomonas melonis* HKMC-108 (número de acceso: KCCM11391P), *Staphylococcus hominis subsp. hominis* HKMC-109 (número de acceso: KCCM11392P), *Staphylococcus warneri* HKMC-110 (número de acceso: KCCM11393P) o un cultivo de los mismos;
- (b) poner en contacto una muestra a analizar con el microorganismo;
- (c) medir una inhibición del crecimiento del microorganismo o una disminución en la generación de un olor desagradable; y
- (d) determinar que la muestra tiene actividad antimicrobiana contra el microorganismo si se inhibe el crecimiento del microorganismo o disminuye la generación de olor desagradable.
- 25 2. El procedimiento de cribado según la reivindicación 1, en el que el sistema de acondicionamiento de aire es un acondicionador de aire.
3. El procedimiento de cribado según la reivindicación 1 o 2, en el que el microorganismo causa un olor desagradable formando una biopelícula sobre un núcleo del evaporador en el sistema de acondicionamiento de aire.
- 30 4. El procedimiento de cribado según la reivindicación 3, en el que el núcleo del evaporador está hecho de aluminio, una aleación de aluminio, cobre o una aleación de cobre.
5. Un microorganismo que produce un olor desagradable utilizado en un sistema de acondicionamiento de aire, siendo el microorganismo seleccionado del grupo que consiste en *Microbacterium flavescens* HKMC-104 (número de acceso: KCCM11387P), *Methylobacterium dankookense* HKMC-101 (número de acceso: KCCM11384P), *Methylobacterium phyllosphaerae* HKMC-102 (número de acceso: KCCM11385P), *Methylobacterium tardum* HKMC-103 (número de acceso: KCCM11386P), *Methylobacterium radiotolerans* HKMC-111 (número de acceso: KCCM11394P), *Sphingomonas dokdonensis* HK- MC-105 (número de acceso: KCCM11388P), *Sphingomonas ginsenosidimutans* HKMC-106 (número de acceso: KCCM11389P), *Sphingomonas humi* HKMC-107 (número de acceso: KCCM11390P), *Sphingomonas melonis* HK- MC-108 (número de acceso: KCCM11391P), *Staphylococcus hominis subsp. hominis* HKMC-109 (número de acceso: KCCM11392P), y *Staphylococcus warneri* HKMC-110 (número de acceso: KCCM11393P).
- 45 6. Un procedimiento para eliminar el olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire, que comprende separar o eliminar uno o más microorganismos que causan un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire, que se selecciona del grupo que consiste en *Microbacterium flavescens* HKMC-104 (número de acceso: KCCM11387P), *Methylobacterium dankookense* HKMC-101 (número de acceso: KCCM11384P), *Methylobacterium phyllosphaerae* HKMC-102 (número de acceso: KCCM11385P), *Methylobacterium tardum* HKMC-103 (número de acceso: KCCM11386P), *Methylobacterium radiotolerans* HKMC-111 (número de acceso: KCCM11394P), *Sphingomonas dokdonensis* HKMC-105 (número de acceso: KCCM11388P), *Sphingomonas ginsenosidimutans* HKMC-106 (número de acceso: KCCM11389P), *Sphingomonas humi* HKMC-107 (número de acceso: KCCM11390P), *Sphingomonas melonis* HK- MC-108 (número de acceso: KCCM11391P), *Staphylococcus hominis subsp. hominis* HKMC-109 (número de acceso: KCCM11392P), y *Staphylococcus warneri* HKMC-110 (número de acceso: KCCM11393P).
- 55 7. Un procedimiento para eliminar un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire, que comprende inhibir el crecimiento de uno o más microorganismos que causan un olor desagradable en un sistema de acondicionamiento de aire, que se selecciona del grupo que consiste en *Microbacterium flavescens* HKMC-104 (número de acceso: KCCM11387P), *Methylobacterium dankookense* HKMC-101 (número de acceso: KCCM11384P), *Methylobacterium phyllosphaerae* HKMC-102 (número de acceso: KCCM11385P), *Methylobacterium tardum* HKMC-103 (número de acceso: KCCM11386P), *Methylobacterium radiotolerans* HKMC-111 (número de acceso: KCCM11394P), *Sphingomonas dokdonensis* HKMC-105 (número de acceso: KCCM11388P), *Sphingomonas ginsenosidimutans* HKMC-106 (número de acceso: KCCM11389P), *Sphingomonas humi* HKMC-107 (número de acceso: KCCM11390P), *Sphingomonas melonis* HK- MC-108 (número de acceso: KCCM11391P), *Staphylococcus*
- 65 acceso: KCCM11390P), *Sphingomonas melonis* HK- MC-108 (número de acceso: KCCM11391P), *Staphylococcus*

ES 2 723 952 T3

hominis subsp. hominis HKMC-109 (número de acceso: KCCM11392P), y *Staphylococcus warneri* HKMC-110 (número de acceso: KCCM11393P).

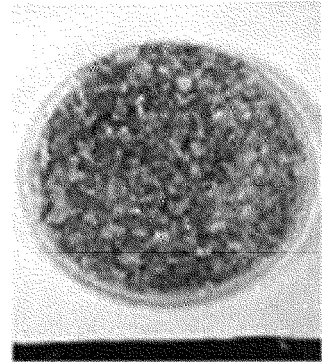
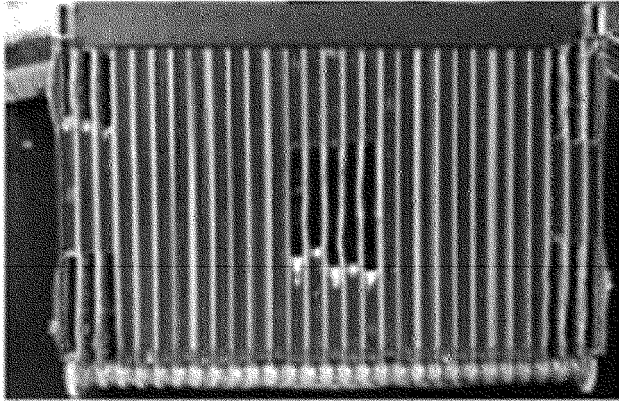


FIG. 1

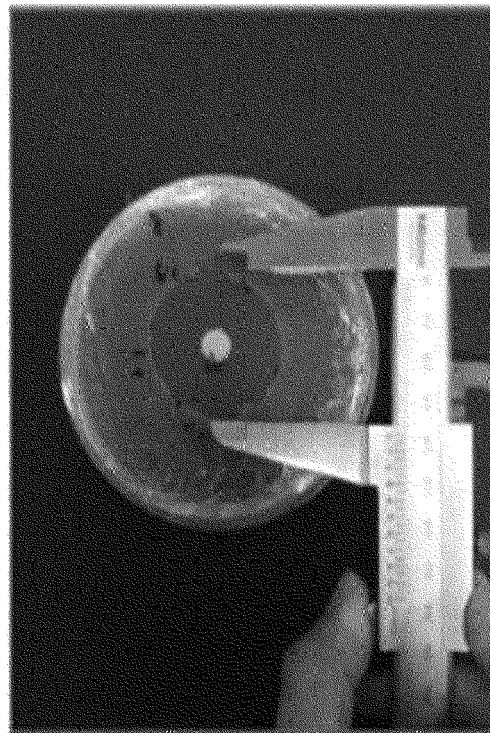


FIG. 2

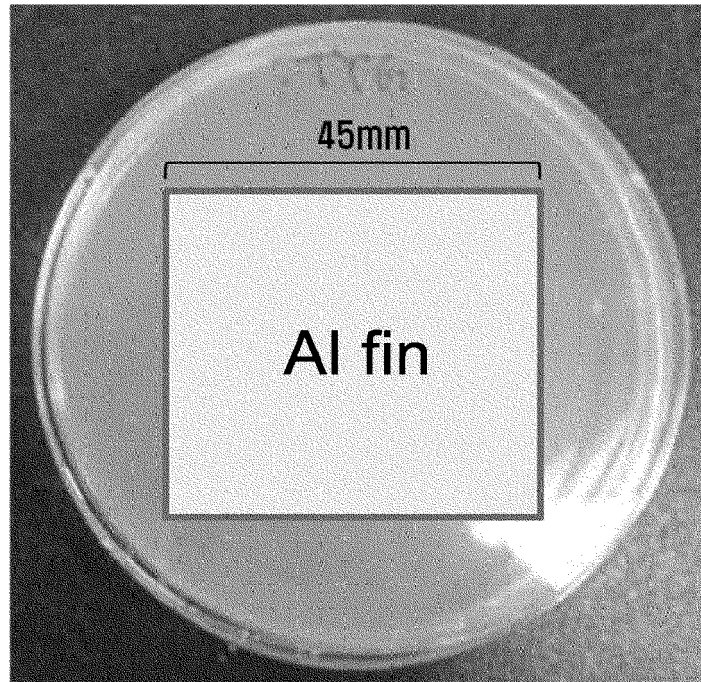


FIG. 3