



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105770945 B

(45)授权公告日 2018.05.22

(21)申请号 201610173855.3

B01D 53/86(2006.01)

(22)申请日 2016.03.24

B01D 53/72(2006.01)

A61L 101/54(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105770945 A

(56)对比文件

(43)申请公布日 2016.07.20

CN 101791421 A,2010.08.04,

CN 102114254 A,2011.07.06,

(73)专利权人 大连晟景科技有限公司

地址 116000 辽宁省大连市沙河口区民政
街351号空气治理

审查员 刘昱

(72)发明人 岳衡

(74)专利代理机构 大连东方专利代理有限责任
公司 21212

代理人 贾汉生 李馨

(51)Int.Cl.

A61L 9/01(2006.01)

A61L 9/014(2006.01)

权利要求书1页 说明书7页

(54)发明名称

一种酵素除甲醛除臭净味剂及其制备方法和应用

(57)摘要

本发明公开了一种酵素除甲醛除臭净味剂,由如下微生物的培养液制备而成:东方伊萨酵母(*Issatchenkia orientalis*)、副干酪乳酸菌(*Lactobacillus paracasei*)、戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*)和面包酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)。该净味剂具有固有的光泽和香味,无异味、臭味,大肠菌群阴性,不含任何有毒成分,可直接从异味的根源进行吸附、包裹、分解、清除掉日常家庭生活中存在的各种毒害物质,具有强力除臭效果,尤其对甲醛的降解去除率达到99%以上。

1. 一种酵素除甲醛除臭净味剂的制备方法,包括如下步骤:

(1) 将东方伊萨酵母和副干酪乳酸菌分别接种至液体培养基A中,37℃下培养,分别得到东方伊萨酵母培养液和副干酪乳酸菌培养液;

(2) 将戊糖片球菌接种于液体培养基B中,37℃下培养,得到戊糖片球菌培养液;

(3) 将面包酵母接种于液体培养基A中,37℃下培养,得到面包酵母培养液;

(4) 将步骤(1)~(3)得到的东方伊萨酵母培养液、副干酪乳酸菌培养液、戊糖片球菌培养液和面包酵母培养液按照体积比1~2:1~2:1~2:1~2混合,混合液离心、透析后得到净味剂;

其中,所述东方伊萨酵母培养液、副干酪乳酸菌培养液、戊糖片球菌培养液和面包酵母培养液中有效活菌数分别为 $1\sim 8\times 10^8$ 个/mL;

所述液体培养基A的组成为:酵母抽出物2.5g、胰蛋白胨5g、葡萄糖10g、蒸馏水定容至1L;

所述液体培养基B的组成为:蛋白胨10g、酵母粉5g、 $MgSO_4\cdot 7H_2O$ 58g、 $MnSO_4\cdot 4H_2O$ 25g、牛肉膏10g、 K_2HPO_4 2g、柠檬酸二胺2g、乙酸钠5g、葡萄糖20g、Tween 80 1mL、调pH6.2~6.4、蒸馏水定容至1L。

2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,在步骤(4)中所述的透析步骤为:将离心得到的混合液的上清液加至截留分子量为14000的透析膜中,在磷酸盐缓冲液中透析除去低分子量物质,回收透析膜中的物质。

3. 一种酵素除甲醛除臭净味剂的制备方法,包括如下步骤:

(1) 将东方伊萨酵母、副干酪乳酸菌、戊糖片球菌和面包酵母按照菌数1~2:1~2:1~2:1~2比例,接种至液体培养基中,在37℃下静置培养,使培养液中的总活菌数达到 $1\sim 3\times 10^9$ 个/mL,培养液经离心收集上清液;

(2) 将收集得到的上清液加至截留分子量为14000的透析膜中,在磷酸盐缓冲液中透析除去低分子量物质,回收透析膜中的物质;

所述液体培养基的组成为:酵母抽出物2.5g、胰蛋白胨5g、葡萄糖10g、蒸馏水定容至1L。

一种酵素除甲醛除臭净味剂及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种微生物制剂,尤其是涉及一种酵素除甲醛除臭净味剂及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 随着我国人民生活水平的提高,恶臭的排放对环境的污染不断加大,所产生的臭气对环境的污染不断加剧,对人类的健康造成极大的威胁,臭气污染越来越引起人们的重视。

[0003] 在我们的日常生活中,甲醛是装修和家具的主要污染物。其释放期长达3-15年,遇热遇潮就会从材料深层中挥发出来,严重污染环境。长期接触第剂量甲醛可引起慢性呼吸道疾病,引起鼻咽癌、结肠癌、白血病等多种疾病。在所有接触者中,儿童和孕妇对甲醛尤为敏感危害也就更大。

[0004] 因此,消臭剂尤其是甲醛除臭剂的开发和使用已成为研究的一个热点。目前市场已有的除臭剂主要有化学除臭剂或植物除臭剂。植物除臭剂提取工艺复杂,生产成本较高;化学除臭剂除成本较高外,还可能造成二次污染。

发明内容

[0005] 针对现有技术中的上述不足,本发明的目的在于提供一种制造方法简单、成本低、除臭效果显著、不易造成二次污染的微生物甲醛除臭净味剂及其制备方法。

[0006] 本发明的目的是由如下技术方案来实现的。

[0007] 一种酵素除甲醛除臭净味剂,由如下微生物的培养液制备而成:东方伊萨酵母(*Issatchenkia orientalis*)、副干酪乳酸菌(*Lactobacillus paracasei*)、戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*)和面包酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)。

[0008] 进一步地,所述净味剂由东方伊萨酵母培养液、副干酪乳酸菌培养液、戊糖片球菌培养液和面包酵母培养液按照体积比1~2:1~2:1~2混合制备而成,所述体积比优选为1:1:1:1。

[0009] 进一步地,所述东方伊萨酵母培养液、副干酪乳酸菌培养液、戊糖片球菌培养液和面包酵母培养液中的有效活菌数分别为 $1\sim 8\times 10^8$ 个/mL。优选的方案中,所述4种菌培养液中的总有效活菌数 $1\sim 3\times 10^9$ 个/mL,优选为 1.64×10^9 个/mL。

[0010] 进一步地,所述净味剂由东方伊萨酵母、副干酪乳酸菌、戊糖片球菌和面包酵母按照菌数1~2:1~2:1~2的比例混合培养的混合培养液制备而成,所述比例优选为1:1:1:1。

[0011] 本发明另一方面,提供上述技术方案中所述的酵素除甲醛除臭净味剂的制备方法,包括如下步骤:

[0012] (1)将东方伊萨酵母和副干酪乳酸菌分别接种至液体培养基A中,37℃下培养,分别得到东方伊萨酵母培养液和副干酪乳酸菌培养液;

[0013] (2) 将戊糖片球菌接种于液体培养基B中,37℃下培养,得到戊糖片球菌培养液;

[0014] (3) 将面包酵母接种于液体培养基A中,37℃下培养,得到面包酵母培养液;

[0015] (4) 将步骤(1)~(3)得到的东方伊萨酵母培养液、副干酪乳酸菌培养液、戊糖片球菌培养液和面包酵母培养液按照体积比1~2:1~2:1~2:1~2混合,混合液离心、透析后得到净味剂;

[0016] 其中,所述东方伊萨酵母培养液、副干酪乳酸菌培养液、戊糖片球菌培养液和面包酵母培养液中有效活菌数分别为 $1\sim 8\times 10^8$ 个/mL;

[0017] 所述液体培养基A的组成为:酵母抽出物2.5g、胰蛋白胨5g、葡萄糖10g、蒸馏水定容至1L;

[0018] 所述液体培养基B的组成为:蛋白胨10g、酵母粉5g、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 58g、 $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 25g、牛肉膏10g、 K_2HPO_4 2g、柠檬酸二胺2g、乙酸钠5g、葡萄糖20g、Tween 80 1mL、调pH6.2~6.4、蒸馏水定容至1L。

[0019] 在上述制备方法中,优选地,在步骤(4)中所述的透析步骤为:将离心得到的混合液的上清液加至截留分子量为14000的透析膜中,在磷酸盐缓冲液中透析除去低分子量物质,回收透析膜中的物质。

[0020] 本发明的再一方面,提供上述技术方案中所述的酵素除甲醛除臭净味剂的制备方法,包括如下步骤:

[0021] (a) 将东方伊萨酵母、副干酪乳酸菌、戊糖片球菌和面包酵母按照菌数1~2:1~2:1~2:1~2比例,接种至液体培养基中,在37℃下静置培养,使培养液中的总活菌数达到 $1\sim 3\times 10^9$ 个/mL,培养液经离心收集得到上清液;

[0022] (b) 将收集得到的上清液加至截留分子量为14000的透析膜中,在磷酸盐缓冲液中透析除去低分子量物质,回收透析膜中的物质。

[0023] 所述液体培养基的组成为:酵母抽出物2.5g、胰蛋白胨5g、葡萄糖10g、蒸馏水定容至1L。

[0024] 在上述制备方法中,在步骤(a)中,按照常规方法,将所述东方伊萨酵母、副干酪乳酸菌、戊糖片球菌和面包酵母分别进行活化,得其种子培养液,并按照菌数比例1~2:1~2:1~2:1~2来混合后,接种至液体培养基进行扩大培养,得混合培养液。

[0025] 在本发明的酵素除甲醛除臭净味剂中可以添加各种花香和果香的香精,以进一步提高除臭效果。

[0026] 本发明的有益效果:

[0027] 本发明的除甲醛除臭净味剂由微生物发酵液精制而成,具有固有的光泽和香味,无异味、臭味,大肠菌群阴性,无焦油色素,不含任何有毒成分,因此直接和人体、家畜、植物接触时不会产生任何毒副作用。本发明的净味剂具有强力除臭效果,尤其对甲醛的降解去除率达到99%以上。另外,本发明的净味剂保质期长达三年以上,在常温下日常使用不受环境的限制。

[0028] 本发明的净味剂,具有酵素活性。本发明净味剂是将所述菌种的培养液通过截留分子量为14000的透析膜除去小分子物质后的剩余部分,具有很高的除臭效果,说明本发明的净味剂中含有高分子量的酵素,并起到分解去除异味的的作用。本发明的净味剂,可直接从异味的根源进行吸附、包裹、分解、清除掉日常家庭生活中存在的各种毒害物质(烟草、汗

渍、下水道反味、排泄物、呕吐物、垃圾味、霉菌味、腐烂味等),为室内外空间的诸多领域提供最佳的空气健康解决方案。

具体实施方式

[0029] 下述非限制性实施例可以使本领域的普通技术人员更全面地理解本发明,但不以任何方式限制本发明。实施例中所述试验方法,如无特殊说明,均为常规方法;所述试剂、材料以及菌种,如无特殊说明,均可从商业途径获得,或可以常规方法制备。

[0030] 下述实施例采用的菌株来源如下:东方伊萨酵母(*Issatchenkia orientalis* CICC33034)、副干酪乳酸菌(*Lactobacillus paracasei* CICC6236)、戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus* CICC23207)和面包酵母(*Saccharomyces cerevisiae* CICC32281)。

[0031] 实施例1

[0032] 一种酵素除甲醛除臭净味剂,由如下方法制备得到:

[0033] (1)将东方伊萨酵母接种至液体培养基A中,在37℃下培静置养72小时,得东方伊萨酵母培养液,培养液中有效活菌数为 3.6×10^8 个/mL;

[0034] (2)将副干酪乳酸菌接种至液体培养基A中,37℃下振荡培养36小时,副干酪乳酸菌培养液,培养液中有效活菌数为 2.3×10^8 个/mL;

[0035] (3)将戊糖片球菌接种于液体培养基B中,37℃下振荡培养48小时,得到戊糖片球菌培养液,培养液中有效活菌数为 7.5×10^8 个/mL;

[0036] (4)将面包酵母接种于液体培养基A中,37℃下振荡培养48小时,得到面包酵母培养液,培养液中有效活菌数为 4×10^8 个/mL;

[0037] (5)将步骤(1)~(4)得到的东方伊萨酵母培养液、副干酪乳酸菌培养液、戊糖片球菌培养液和面包酵母培养液按照体积比1:1:1:1混合,混合液在4℃、3500rpm下离心,收集上清液;

[0038] (6)将步骤(5)的上清液加至截留分子量为14000的透析膜中,放入磷酸盐缓冲液(将磷酸氢二钠9.46g水溶液,用磷酸二氢钾溶液调节至pH值7.0,定容至1L)中,在5℃、磁力搅拌器搅拌条件下透析除去低分子量物质,回收透析膜中的物质,即为本发明的除甲醛除臭净味剂。

[0039] 在上述制备方法中:

[0040] 所述液体培养基A的组成为:酵母抽出物2.5g、胰蛋白胨5g、葡萄糖10g、蒸馏水定容至1L;

[0041] 所述液体培养基B的组成为:蛋白胨10g、酵母粉5g、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 58g、 $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ 25g、牛肉膏10g、 K_2HPO_4 2g、柠檬酸二胺2g、乙酸钠5g、葡萄糖20g、Tween 80 1mL、调pH6.2~6.4、蒸馏水定容至1L;

[0042] 在步骤(6)中,透析可以按照本领域常规方法进行,优选地,透析膜中的物料与磷酸盐缓冲液的比例为1:100~150为佳,透析时间优选为12~24小时。

[0043] 上述方法制备得到的净味剂为透明液体状态,无异味,可以直接使用或加入各种香精后使用,具体使用方法为:可以直接装入喷雾用容器中,喷雾的方式进行除臭,也可以装入带有挥发孔的容器中,放置的方式除臭。

[0044] 实施例2

[0045] 一种酵素除甲醛除臭净味剂,由如下方法制备得到:

[0046] (1) 将东方伊萨酵母、副干酪乳酸菌、戊糖片球菌和面包酵母按照菌数1:1:1:1比例,接种至液体培养基中,在37℃下静置培养,使培养液中的总活菌数达到 1.64×10^9 个/mL,培养液在4℃、3500rpm下离心,收集上清液;

[0047] (2) 将步骤(1)的上清液加至截留分子量为14000的透析膜中,放入磷酸盐缓冲液(将磷酸氢二钠9.46g水溶液,用磷酸二氢钾溶液调节至pH值7.0,定容至1L)中,在5℃、磁力搅拌器搅拌条件下透析除去低分子量物质,回收透析膜中的物质,即为本发明的除甲醛除臭净味剂。

[0048] 在上述制备方法中:

[0049] 所述液体培养基的组成为:酵母抽出物2.5g、胰蛋白胨5g、葡萄糖10g、蒸馏水定容至1L;

[0050] 在步骤(2)中,透析可以按照本领域常规方法进行,优选地,透析膜中的物料与磷酸盐缓冲液的比例为1:100~150为佳,透析时间优选为12~24小时。

[0051] 上述方法制备得到的净味剂为透明液体状态,无异味,可以直接使用或加入各种香精后使用,具体使用方法为:可以直接装入喷雾用容器中,喷雾的方式进行除臭,也可以装入带有挥发孔的容器中,放置的方式除臭。

[0052] 实施例3

[0053] 为了说明方便,将上述实施例1的方法制备得到的净味剂命名为净味剂A,实施例2的方法制备得到的净味剂命名为净味剂B。

[0054] 气体检测管检测除臭效果:

[0055] 室温条件下,在1L褐色玻璃瓶内加入70ppm的三甲胺,然后分别喷入净味剂A和B 1ml。10分钟、1小时、3小时、5小时、24小时后提取容器中气体50ml,加入胺类检测管检测胺类气体浓度。以未接种微生物的培养基,与净味剂A和B进行相同的操作,作为对照组。相对于对照组,本发明的净味剂A和B在1小时内可完全消化分解三甲胺,具有优异的除臭特性。

[0056] 实施例4

[0057] 本发明实施例2制备得到的净味剂对甲醛、三甲胺、氨、醋酸、异戊酸的除臭效果:在室温条件下5L玻璃瓶中分别加入一定浓度的上述物质(检测项目)3L,然后分别喷入本发明净味剂5mL。喷入0分钟、5分钟、5小时后提取容器中气体50ml,用气相色谱测定玻璃瓶中的上述物质的浓度。以未接种微生物的培养基,与净味剂进行相同的操作,作为对照组。测定结果如表1。

[0058] 表1. 本发明净味剂对甲醛、三甲胺、氨、醋酸除臭效果

[0059]

检测项目	除臭剂	玻璃瓶中试剂浓度 (ppm)			除臭率 (%)	
		0 min	5 min	5 h	5 min	5 h
甲醛	净味剂	15	8.0	0.5	46.7	96.7
	对照组	15	15	10	0	33.3
三甲胺	净味剂	28	14	4.8	50	82.85
	对照组	28	28	28	0	0
氨	净味剂	100	40	12	60	88
	对照组	100	100	80	0	20
醋酸	净味剂	50	10	0.05	80	99.95
	对照组	50	50	40	0	20

[0060] 由表1的结果可见,本发明净味剂对于甲醛、三甲胺、氨和醋酸等刺激气味的物质具有优异的分解效果,以此具有除臭效果。本发明净味剂对甲醛(装饰材料释放的主要气体)分解5分钟就可以去除46.7%,分解5小时时可去除96.7%。目前还没有这么短时间内分解甲醛的除臭剂。

[0061] 另外,对于异戊酸的除臭实验结果表明,本发明的净味剂在喷入2小时,玻璃瓶内的异戊酸的减少率达到97.7%,但对照组(只喷入培养基)并没有减少玻璃瓶内的异戊酸。

[0062] 实施例5

[0063] 根据QB/T 2761-2006《室内空气净化产品效果测定方法》,检测本发明净味剂对室内空气中的甲醛的去除效果。

[0064] 检测方法:

[0065] 1. 试验在密闭的容积为1.5m³的测试舱中进行,将本发明净味剂(实施例1制备)700mL,倒入加湿器内,然后将加湿器放在测试舱内。

[0066] 2. 将甲醛释放源一次性投放如测试舱内,开启风扇,使释放源与舱内空气混合均匀,关闭风扇,采样检测舱内空气中甲醛浓度为初始浓度值。

[0067] 3. 开启装有本发明净味剂的加湿器电源,使其在工作状态下正常运行,分别于5h, 24h后采样并测定舱内空气中的甲醛浓度值。检测设备为分光光度计。

[0068] 4. 去除效果计算公式: $y = (C_A - C_B) / C_A * 100\%$

[0069] 式中:y为去除率,%;C_A为初始舱内染污无浓度值;C_B为作用时间后舱内污染物浓度值。

[0070] 检测结果如表2。

[0071] 表2. 本发明净味剂对室内空气中甲醛的去除效果

检测项目	作用时间 (h)	检测结果 (mg/m ³)	去除率 (%)
[0072] 甲醛	初始	0.98	-
	5	0.08	92
	24	0.01	99

[0073] 由表2的结果可见,本发明的净味剂对室内空气中的甲醛的去除效果优异,作用5小时时去除率已达到92%,作用24小时时的去除率为99%。

[0074] 实施例6 皮肤刺激性试验

[0075] 测试方法:化妆品卫生规范(2007),中华人民共和国卫生部监督司

[0076] 测试样品:本发明净味剂

[0077] 1.动物:普通级新西兰白兔4只,体重2.0~3.0kg,由上海科硕实验动物有限公司提供。

[0078] 2.试验环境:普通级兔房,环境温度18~23℃;相对湿度45~65%。

[0079] 试验步骤:试验前24h,去除实验动物背部脊柱两侧部位毛,避免损伤皮肤,去毛范围为3cm×3cm;取受试样品0.5mL直接涂布于一侧的测试部位皮肤,采用封闭试验,4小时后去除敷料,用温水清洗接触部位。分别于清除受试物后1、24、48和72h观察皮肤的红斑和水肿反应。测试结果如表3。

[0080] 表3.本发明净味剂对皮肤刺激反应的检测结果

[0081]

动物号	反应	观察时间					
		24h		48h		72h	
		样品	对照	样品	对照	样品	对照
1	红斑	0	0	0	0	0	0
	水肿	0	0	0	0	0	0

[0082]

2	红斑	0	0	0	0	0	0
	水肿	0	0	0	0	0	0
3	红斑	0	0	0	0	0	0
	水肿	0	0	0	0	0	0
4	红斑	0	0	0	0	0	0
	水肿	0	0	0	0	0	0

[0083] 表3中样品为受试样品,即本发明的净味剂,对照为未接种微生物的培养基。表3的结果可见,各观察时点最高皮肤刺激积分均为0,说明本发明净味剂对家兔皮肤的刺激强度

属无刺激性。

[0084] 实施例7 急性经口毒性试验

[0085] 测试方法:化妆品卫生规范2007

[0086] 测试样品:本发明净味剂

[0087] 1. 试验动物:KM小鼠,SPF级,体重18-22g,由上海杰思捷实验动物有限公司提供。

[0088] 2. 检测环境:SPF动物房,室温20~22℃;相对湿度45~65%。

[0089] 3. 试验步骤:按随机选择动物进行分组,受试前动物禁食过夜16小时。采用一次限量法,灌胃剂量为5.0g/kg,灌胃容量按20mg/kg·BW计。每天2次观察动物的一般状态、中毒状态、行为变化状态和死亡情况,每3天称重一次。对中毒死亡动物和染毒后14天存活动物作大体病例观察。

[0090] 4. 实验结果:实验动物在染毒后观察期内未见任何中毒症状和中毒死亡,雌雄动物体重增长未见异常。实验观察结束,对受试动物进行大体病理解剖检查也未见异常变化。试验结果如表4。

[0091] 表4. 本发明净味剂对小鼠急性经口毒性试验结果

[0092]

剂量组 (g/kg)	性 别	动物数 (只)	体重 (X±SD, g)			死亡动物 数 (只)	死亡率 (%)
			0	7	14		
5.0	雌	10	21.1± 1.73	26.3± 1.70	28.6± 1.35	0	0
5.0	雄	10	21.2± 1.62	30.8± 2.44	34.7± 2.95	0	0

[0093] 实施例8

[0094] 高温高压处理:

[0095] 将本发明净味剂高温高压处理(120度,20分钟)后进行上述实施例3~实施例7的检测,结果表明高温高压处理过的本发明净味剂和未处理过的具有同等除臭效果。