



(12) **BẢN MÔ TẢ GIẢI PHÁP HỮU ÍCH THUỘC BẢNG ĐỘC QUYỀN
GIẢI PHÁP HỮU ÍCH**

(19) **Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam (VN)
CỤC SỞ HỮU TRÍ TUỆ**

(11)



2-0002692

(51)⁷ **C12Q 1/68; A61K 36/00**

(13) **Y**

(21) 2-2019-00149

(22) 09/05/2019

(45) 25/09/2021 402

(43) 25/07/2019 376A

(73) Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội (VN)
334 Nguyễn Trãi, quận Thanh Xuân, thành phố Hà Nội

(72) Đinh Nho Thái (VN); Nguyễn Thị Hồng Vân (VN); Nguyễn Thị Hồng Loan (VN);
Trần Thị Thùy Anh (VN).

(54) QUY TRÌNH SẢN XUẤT CHẾ PHẨM ĐỂ NGĂN NGỪA BẠC TÓC VÀ CHẾ PHẨM ĐỂ
NGĂN NGỪA BẠC TÓC THU ĐƯỢC TỪ QUY TRÌNH NÀY

(57) Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc, trong đó củ Hà thủ ô đỏ, Ngũ bội tử và quả Bồ kết được chiết với metanol trong điều kiện siêu âm để thu được các cao chiết, cao chiết này được phối trộn với enzym catalaza và glyxerol để thu được chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc. Ngoài ra, giải pháp hữu ích cũng đề cập đến chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc chứa cao chiết Hà thủ ô đỏ, cao chiết Ngũ bội tử, cao chiết Bồ kết phối trộn với enzym catalaza và glyxerol ở dạng lỏng ổn định để gội ngăn ngừa bạc tóc.

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Giải pháp hữu ích thuộc lĩnh vực công nghệ sinh học, công nghệ enzym và sản phẩm chiết thiên nhiên, cụ thể là giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc và chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc thu được từ quy trình này.

Tình trạng kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Tóc là một thành phần của thượng bì, chứa nhiều chất sừng và các sắc tố melanin. Màu sắc của tóc được quyết định bởi hàm lượng sắc tố melanin, trong đó eumelanin có màu nâu đậm hay đen và pheomelanin có màu vàng hung đỏ. Khi hoạt động của các tế bào sản sinh sắc tố melanin (melanocytes) bị rối loạn hay ngừng trệ hoặc melanin bị phân giải do các hợp chất thứ cấp của trao đổi chất sẽ làm tóc mất đi màu sắc ban đầu, khiến tóc bị bạc.

Có nhiều nguyên nhân gây nên hiện tượng tóc bạc sớm như di truyền, sử dụng quá nhiều thuốc nhuộm và các mỹ phẩm gây hại cho tóc, hút thuốc lá, tinh thần và thể trạng hoặc do tiếp xúc với các bức xạ hay thiếu dưỡng chất. Trong đó, một yếu tố đang được nghiên cứu đó là tóc bạc gây ra bởi các gốc tự do mở ra hướng nghiên cứu về bệnh bạc tóc và điều trị nhằm loại bỏ gốc tự do.

Hoạt động sống trong tế bào, mô của cơ thể làm tích lũy các chất có tính oxy hóa cao (ROS) và một trong số hợp chất đó là hydrogen peroxid. Nghiên cứu của Wood JM và cộng sự năm 2009 đã chỉ ra rằng ở phần nang của sợi tóc bạc nồng độ hydrogen peroxid tích lũy đến mức độ mmole và làm phân giải phân tử hắc tố melanin, dẫn đến tế bào hoặc vùng da thiếu hắc tố, góp phần gây nên chứng bạc tóc hoặc mất sắc tố tự nhiên ở da. Kauser và cộng sự cũng chỉ ra rằng enzym catalaza ở nang tóc cũng kém biểu hiện hơn ở những người cao tuổi. Enzym catalaza (EC 1.11.1.6) là enzym chịu trách nhiệm chính phân giải hydrogen peroxid trong tế bào.

Hiện nay trên thị trường thế giới có nhiều các loại thuốc chống lão hóa ở tóc hoặc các loại dầu dưỡng tóc có chứa các thành phần tách chiết các hợp chất chống oxy hóa như Melatonin, vitamin A, hợp chất polyphenol, Vitamin E, phytoestrogen, và các loại dược chất thiên nhiên khác, tuy nhiên cơ chế tác dụng của chúng là không rõ ràng và thiếu minh chứng về hiệu quả ngăn ngừa bạc tóc.

Gần đây, nhóm nghiên cứu của Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ enzym và Protein, Đại học Quốc gia đã bước đầu nghiên cứu chiết xuất Hà thủ ô đỏ đối với việc tăng sinh melanin trong melanocyte, kết quả cho thấy có sự tăng sinh melanin ở cấp độ tế bào, tuy nhiên còn thiếu nghiên cứu tăng sinh ở cấp độ cơ thể cũng như thiếu các nghiên cứu kết hợp enzym và các chiết xuất hợp chất thiên nhiên.

Bồ kết đã được sử dụng trong việc tăng cường mượt tóc và đen tóc hiệu quả. Nghiên cứu của Phan Văn Kiệm và cộng sự đã phát hiện hoạt tính kháng khuẩn của hợp chất BK01 tách chiết từ lá bồ kết (*Gleditsia australis* Hemsl.) tại Việt Nam, tuy nhiên, hiện vẫn chưa có minh chứng rõ ràng về cơ chế tác động của dịch chiết Bồ kết đối với khả năng ngăn ngừa bạc tóc trên mô hình động vật.

Thực tế cho thấy việc sử dụng thuốc để bôi ngoài có tiềm năng tốt hơn. Dùng thuốc bôi ngoài cho các bệnh nhân bị bệnh bạch biến (sắc tố da bị ảnh hưởng làm một vùng da loang lổ) được nghiên cứu với hơn 4000 trường hợp bệnh nhân cho thấy có tác dụng khả quan. Song việc chỉ sử dụng enzym catalaza là đơn giản, chưa có nghiên cứu về việc sử dụng phối trộn giữa catalaza với các chiết xuất hợp chất thiên nhiên nhằm ứng dụng trong phát triển dầu dưỡng trị chứng bạc tóc ở người, mà nổi bật gần đây các nghiên cứu về công dụng tốt của riêng Hà thủ ô đỏ (tên khoa học là: *Polygonum multiflorum*) trong việc tăng cường sinh trưởng của tóc ở mô hình động vật thử nghiệm.

Hiện chưa có thuốc điều trị chứng bạc tóc sớm cũng như chưa có nghiên cứu liên quan đến việc kết hợp giữa catalaza với các thảo dược để phân giải peroxit từ chân tóc và tăng cường giữ đen tóc ở dạng dầu dưỡng hay thuốc ủ tóc. Do đó, cần có loại chế phẩm có khả năng kết hợp được lý thuyết khoa học hiện đại với y học cổ truyền giúp ngăn ngừa tóc bạc sớm hiệu quả.

Bản chất kỹ thuật của giải pháp hữu ích

Mục đích của giải pháp hữu ích nhằm giải quyết các vấn đề kỹ thuật nêu trên. Theo đó, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc chứa cao chiết từ củ Hà thủ ô đỏ, Ngũ bội tử, Bồ kết được phối trộn với enzym catalaza và glyxerol, và chế phẩm dùng để ngăn ngừa bạc tóc thu được từ quy trình này.

Theo khía cạnh thứ nhất, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) chuẩn bị nguyên liệu bằng cách thu hái từng thành phần bao gồm củ Hà thủ ô đỏ, Ngũ bội tử và quả Bồ kết, cắt nhỏ rồi phơi sấy đến khi khô, sau khi nghiền nhỏ thu được bột củ Hà thủ ô đỏ, bột Ngũ bội tử, bột quả Bồ kết, enzym catalaza được tinh sạch và chuẩn độ đến 3000u/ml;

b) thu cao chiết bằng cách ngâm chiết từng thành phần bột củ Hà thủ ô đỏ, bột Ngũ bội tử và bột quả Bồ kết nêu trên với metanol theo tỷ lệ 50 g/l trong điều kiện siêu âm trong 30 phút, nhiệt độ 50°C, sau khi loại bỏ bã, từng phần dịch được ly tâm với tốc độ 5000-7000 vòng/phút trong 10 phút, lọc bỏ cặn và tiến hành cô trong thiết bị cất quay chân không, thu được phần cao chiết Hà thủ ô, cao chiết Ngũ bội tử và cao chiết Bồ kết ở dạng cao khô, tương ứng; và

c) thu chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc bằng cách chuẩn bị các thành phần theo % trọng lượng như sau:

Enzym catalaza 3000 u/ml:	3 - 5
Cao chiết Hà thủ ô đỏ	0,1 - 0,2
Cao chiết Ngũ bội tử	0,1 - 0,2
Cao chiết Bồ kết	0,1 - 0,2
Glyxerol	9 - 10

Kali phosphat 20 mM, pH=7 84,4 - 87,7

hòa tan cao chiết Hà thủ ô đỏ, cao chiết Ngũ bội tử và cao chiết Bồ kết với đệm Kali phosphat 20 mM, pH=7, sau khi khuấy đều trong 1 tiếng ở nhiệt độ phòng, bổ sung glyxerol và để ổn định hỗn hợp trong khoảng từ 8 đến 12 giờ ở nhiệt độ 4°C, sau đó điều chỉnh pH=7 rồi bổ sung enzym catalaza đến khi dung dịch đạt hoạt độ khoảng từ 60 đến 300 u/ml và khuấy đều trong 15 phút ở 4°C thu được chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó hoạt lực enzym catalaza trong chế phẩm được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 90 đến 150 u/ml.

Theo khía cạnh thứ hai, giải pháp hữu ích đề cập đến chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc được sản xuất bằng quy trình theo giải pháp hữu ích, trong đó chế phẩm này bao gồm các thành phần theo tỷ lệ % trọng lượng như sau:

Enzym catalaza 3000 u/ml:	3 - 5
Cao chiết Hà thủ ô đỏ	0,1 - 0,2

Cao chiết Ngũ bội tử	0,1 - 0,2
Cao chiết Bồ kết	0,1 - 0,2
Glyxerol	9 - 10
Kali phosphat 20 mM, pH=7	84,4 - 87,7.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó hoạt lực enzym catalaza trong chế phẩm nằm trong khoảng từ 90 đến 150 u/ml.

Mô tả văn tắt hình vẽ

Hình 1 là ảnh chụp mô tả thử nghiệm chế phẩm trên chuột, trong đó chuột thử nghiệm được bôi chế phẩm (A2) và (B2) cho thấy cải thiện sự bạc lông so với đối chứng (A1) và (B1).

Mô tả chi tiết giải pháp hữu ích

Sau đây, giải pháp hữu ích mô tả chi tiết các phương án thực hiện kèm theo các ví dụ thực hiện cụ thể, tuy nhiên, các phương án này chỉ nhằm bộc lộ bản chất của giải pháp hữu ích chứ không nhằm mục đích hạn chế phạm vi yêu cầu bảo hộ của giải pháp hữu ích.

Giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc chứa cao chiết từ củ Hà thủ ô đỏ, Ngũ bội tử, Bồ kết được phối trộn với enzym catalaza và glyxerol, và chế phẩm dùng để ngăn ngừa bạc tóc thu được từ quy trình này.

Củ Hà thủ ô đỏ được thu hái từ cây Hà thủ ô đỏ có tên danh pháp khoa học là *Polygonum multiflorum* Thunb (*Fallopia multiflora*), đây là một loài cây thân mềm thuộc họ Rau răm (*Polygonaceae*), bộ Cẩm chướng (*Caryophyllales*). Củ cây Hà thủ ô đỏ là phần rễ của cây phình to, màu đỏ. Cây Hà thủ ô sống lâu năm, thân mềm dạng dây leo quấn với nhau, lá hình tim, đầu nhọn, dài 5 - 7cm, rộng 3 - 5 cm. Cụm hoa hình chùy mọc ở đầu cành hoặc nách lá, mang nhiều hoa. Hoa nhỏ, màu trắng, 3 mảnh vòng ngoài lớn lên cùng quả. Quả 3 cạnh, khô, không tự mở. Trong dân gian, củ Hà thủ ô đỏ được sử dụng làm thuốc bổ, trị suy nhược thần kinh, ích huyết, khỏe gân cốt, đen râu tóc. Bộ phận dùng theo giải pháp là củ rễ của cây.

Ngũ bội tử (*Galla sinensis*) là phần vỏ túi đặc biệt do nhộng của sâu Ngũ bội tử (*Melaphis chinensis* (Bell) Baker), ký sinh trên những cuống lá và cành của cây Muối hay Diêm phụ mọc có nhiều loại có tên thực vật khác nhau như *Rhus chinensis* Mill

R.Potaninii Maxim, *R.punjabensis* Stew var *Sinica* (Diels) Rehd et Wils, thuộc họ Đào lộn hột (Anacardiaceae). Ngũ bội tử còn có tên là Mặc piết, Văn cáp, Bách trùng thương và trong y học dân tộc từ lâu được dùng làm thuốc có tác dụng liễm phế giáng hỏa, sáp tràng, cố tinh liễm hãn chỉ huyết chủ trị các chứng phế hư cừu khái, thoát giang, di tinh, tự hãn, đạo hãn, băng lậu hạ huyết. Ngũ bội tử chủ yếu có ở Trung Quốc hay một số ít các tỉnh phía bắc Việt Nam. Trong Ngũ bội tử có nhiều tanin gây kết tủa albumin nên có tác dụng thu liễm làm lành các vết loét ngoài da, niêm mạc. Tanin có thể kết hợp với một số kim loại, ancaloit, glucosit hình thành các hợp chất không hòa tan nên có tác dụng giải độc đối với các loại thuốc có thành phần này.

Bồ kết theo giải pháp hữu ích là quả của cây Bồ kết, hay còn được gọi là cây chùm kết, tạo giác, tạp giáp, trư nha có tên khoa học là *Gleditschia australis* Hemsl có tên được điển là *Fructus Gleditschiae.*, thuộc họ Vang (Caesalpiniaceae). Cây Bồ kết là loài cây sống lâu năm, thân có gai, quả dài, hạt giống hạt đậu, mỗi quả có trung bình từ 30 đến 40 hạt. Quả bồ kết chứa một lượng lớn dầu thực vật, tập trung nhiều trong hạt, nên thường được sử dụng để gội đầu giúp tóc đen và óng mượt.

Theo khía cạnh thứ nhất, giải pháp hữu ích đề cập đến quy trình sản xuất chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc, trong đó quy trình này bao gồm các bước: a) chuẩn bị nguyên liệu; b) thu cao chiết; và c) thu chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc.

Trong bước chuẩn bị nguyên liệu, các thành phần bao gồm củ Hà thủ ô đỏ, Ngũ bội tử và quả Bồ kết được thu hái, loại bỏ tạp chất, làm sạch.

Củ Hà thủ ô đỏ chọn loại củ già của cây Hà thủ ô đỏ, rửa sạch và cắt thành mẫu kích thước khoảng 0,5x1 cm. Sau khi phơi khô, tiến hành nghiền nhỏ trong máy nghiền có sàng cỡ lỗ khoảng 1x1 mm thu được sản phẩm dạng bột của củ Hà thủ ô thô trước khi ngâm chiết.

Ngũ bội tử được thu gom, loại bỏ tạp chất, rửa sạch và cắt thành mẫu kích thước khoảng 0,5x1 cm. Sau khi phơi khô, tiến hành nghiền nhỏ trong máy nghiền có sàng cỡ lỗ khoảng 1x1 mm thu được sản phẩm dạng bột của Ngũ bội tử trước khi ngâm chiết.

Quả Bồ kết được thu hái, làm sạch, loại bỏ tạp chất rửa sạch và cắt thành mẫu kích thước khoảng 0,5x1 cm. Sau khi phơi khô, tiến hành nghiền nhỏ trong máy nghiền có sàng cỡ lỗ khoảng 1x1 mm thu được sản phẩm dạng bột của Bồ kết trước

khi ngâm chiết. Theo một phương án, quả bồ kết có thể còn được phơi khô và nướng để tăng mùi thơm cho chế phẩm trước khi nghiền thành bột.

Enzym catalaza là loại enzym phổ biến trong sinh vật sống tiếp xúc với oxy, nó là chất xúc tác phân giải hydro peroxit thành nước và oxy, có tác dụng bảo vệ tế bào trước sự tấn công của các chất kích oxy hóa bởi các hợp chất phản ứng và catalaza là enzym mạnh. pH tối ưu cho enzym này cho người là pH trung tính. Catalaza của người là một dạng cấu trúc bốn tiểu đơn vị, mỗi phần tử có thể được chia thành bốn miền. Catalaza cũng có thể xúc tác quá trình oxy hóa, bởi hydro peroxit, các chất chuyển hóa và độc tố khác nhau, bao gồm formaldehyd, axit formic, phenol, acetaldehyt và ancol. Enzym catalaza có thể dễ dàng mua được ngoài thị trường, được cung cấp bởi nhiều nhà cung cấp. Theo giải pháp hữu ích, enzym catalaza được tinh sạch và chuẩn độ đến 3000u/ml. Mặc dù theo giải pháp hữu ích, có thể mua enzym catalaza tinh sạch và việc chuẩn độ này có thể không cần thiết, và người trong lĩnh vực kỹ thuật này hoàn toàn có thể quy đổi để thu được lượng enzym với hoạt độ tương ứng bằng cách thêm hoặc giảm lượng enzym tùy theo hoạt độ để thu được hoạt độ cuối cùng tương ứng với hoạt độ quy chuẩn theo giải pháp hữu ích.

Trong bước thu cao chiết, tiến hành ngâm ngâm chiết từng thành phần bột củ Hà thủ ô đỏ, bột Ngũ bội tử và bột quả Bồ kết thu được ở trên với metanol theo tỷ lệ 50 g/l. Quá trình chiết được thực hiện trong điều kiện siêu âm trong 30 phút, nhiệt độ 50°C. Sau khi loại bỏ bã, từng phần dịch được ly tâm với tốc độ 5000-7000 vòng/phút trong 10 phút. Sau khi lọc bỏ cặn và tiến hành cô trong thiết bị cất quay chân không, thu được phần cao chiết Hà thủ ô, cao chiết Ngũ bội tử và cao chiết Bồ kết ở dạng cao khô, tương ứng.

Trong bước thu chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc, các thành phần nguyên liệu được chuẩn bị theo % trọng lượng như sau:

Enzym catalaza 3000 u/ml:	3 - 5
Cao chiết Hà thủ ô đỏ	0,1 - 0,2
Cao chiết Ngũ bội tử	0,1 - 0,2
Cao chiết Bồ kết	0,1 - 0,2
Glyxerol	9 - 10
Kali phosphat 20 mM, pH=7	84,4 - 87,7.

Tiến hành hòa tan cao lần lượt chiết Hà thủ ô đỏ, cao chiết Ngũ bội tử và cao chiết Bồ kết với đệm Kali phosphat 20 mM, pH=7 và tiến hành khuấy đều trong 1 tiếng ở nhiệt độ phòng. Sau đó, bổ sung glyxerol và để ổn định hỗn hợp trong khoảng từ 8 đến 12 giờ ở nhiệt độ 4°C. Tiếp theo điều chỉnh pH=7 bằng NaOH hoặc HCl 0,1 N, rồi bổ sung enzym catalaza đến khi dung dịch đạt hoạt độ nằm trong khoảng từ 60 đến 300 u/ml. Tiến hành khuấy đều trong 15 phút ở 4°C thu được chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó hoạt lực enzym catalaza trong chế phẩm được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 90 đến 150 u/ml.

Chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc theo giải pháp hữu ích thu được ở dạng lỏng, có màu nâu đen, mùi thơm thảo dược.

Theo khía cạnh thứ hai, giải pháp hữu ích đề cập đến chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc được sản xuất bằng quy trình theo giải pháp hữu ích, trong đó chế phẩm này bao gồm các thành phần theo tỷ lệ % trọng lượng như sau:

Enzym catalaza 3000 u/ml:	3 - 5
Cao chiết Hà thủ ô đỏ	0,1 – 0,2
Cao chiết Ngũ bội tử	0,1 – 0,2
Cao chiết Bồ kết	0,1 – 0,2
Glyxerol	9 - 10
Kali phosphat 20 mM, pH=7	84,4 - 87,7.

Theo một phương án ưu tiên, trong đó hoạt lực enzym catalaza trong chế phẩm nằm trong khoảng từ 90 đến 150 u/ml. Chế phẩm theo giải pháp hữu ích ở dạng lỏng, màu đen, mùi thơm thảo dược thích hợp sử dụng để gội nhằm ngăn ngừa bạc tóc.

Ví dụ thực hiện giải pháp hữu ích

Ví dụ 1. Sản xuất chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc

Thu hái củ Hà thủ ô đỏ, Ngũ bội tử và quả Bồ kết tươi, loại bỏ tạp chất. Các thành phần này được cắt nhỏ đến kích thước 0,5x1 cm, phơi sấy đến khi khô và nghiền trên máy nghiền có sàng cỡ lỗ 1x1mm thu được các nguyên liệu tương ứng ở dạng bột.

Cân 100 g mỗi thành phần bột thu được ở trên chuyển vào từng bình chiết tương ứng, mỗi bình chiết bổ sung 2 lít metanol và bật máy rung siêu âm trong 30 phút ở

nhiệt độ 50°C kết hợp khuấy từ. Sau khi hút kiệt phần dịch chiết, bỏ phần bã, tiến hành ly tâm trên máy ly tâm tốc độ 6000 vòng/phút trong 10 phút. Lọc bỏ cặn trên giấy Whatman1 thu phần dịch chiết. Tiến hành cô quay bằng thiết bị cất quay chân không đến khi trọng lượng không đổi thu được 6,5 g cao khô của Hà thủ ô đỏ, 12 g cao khô của Ngũ bội tử và 10 g cao khô của Bồ kết. Mỗi sản phẩm này được bảo quản trong lọ thủy tinh kín ở nhiệt độ 4°C có bổ sung gói silicagel hút ẩm dùng làm nguyên liệu để thực hiện các bước tiếp theo.

Cân 2g mẫu cao khô mỗi loại của Hà thủ ô đỏ, Ngũ bội tử và Bồ kết rồi hòa tan trong 840 mL đệm Kali phosphat 20 mM, pH=7 và khuấy từ trong 1 tiếng ở nhiệt độ phòng. Tiếp đó, bổ sung 100 ml glyxerol và khuấy đều trong 30 phút. Để hỗn hợp qua đêm ở 4°C để ổn định nhiệt độ. Sau khi điều chỉnh pH=7, bổ sung 50 ml enzym catalaza 3000 u/ml và khuấy từ ở 4°C trong 15 phút. Kết quả thu được 1000 ml chế phẩm dạng lỏng có màu nâu đen, mùi thơm thảo dược.

Ví dụ 2. Kiểm tra chất lượng sản phẩm trong quá trình bảo quản

Để kiểm tra sự ổn định của chế phẩm trong quá trình bảo quản, tiến hành thử nghiệm đánh giá chất lượng của chế phẩm trong khoảng thời gian 9 tháng bảo quản. Trong đó, 250 ml chế phẩm dạng lỏng được chia ra từng thể tích 10 ml được đựng trong các ống Falcon 15 ml được 25 ống, tất cả được lưu giữ trong tủ lạnh -20°C để kiểm tra chất lượng sản phẩm trong quá trình bảo quản. Tiến hành đánh giá mức độ ổn định của chế phẩm dựa trên sự đồng nhất về màu sắc, hoạt độ enzym catalaza sau mỗi tháng. Mức độ ổn định của chế phẩm được đánh giá bằng mắt thường. Hoạt độ enzym được đánh giá theo phương pháp của Jang và cộng sự (Jang H. H., K. O. Lee and Y. H. Chi (2004), “Two enzyme in one; two yeast peroxiredoxins display oxidative stress-dependent switching from a peroxidase to a molecular chaperon function”, Cell, 117(5), pp. 625-635).

Kết quả đánh giá cho thấy, sau 9 tháng bảo quản, chế phẩm vẫn giữ được sự đồng nhất sau khi tan đông, không bị tủa, kết tụ, điều này cho thấy sự ổn định của chế phẩm. Kết quả đánh giá về hoạt độ catalaza được thể hiện trong bảng sau:

stt	Thời gian bảo quản	Hoạt độ trung bình
1	0 tháng	125 ± 10,5 u/ml
2	1 tháng	120 ± 9,6 u/ml

3	2 tháng	$118 \pm 8,3$ u/ml
4	3 tháng	115 ± 12 u/ml
5	4 tháng	$122 \pm 11,7$ u/ml
6	5 tháng	116 ± 14 u/ml
7	6 tháng	$109 \pm 12,3$ u/ml
8	9 tháng	107 ± 13 u/ml

Theo kết quả thể hiện trên bảng cho thấy, mặc dù hoạt độ enzym giảm dần theo thời gian bảo quản, tuy nhiên mức giảm này là không đáng kể và thấy rằng, điều kiện bảo quản chế phẩm ở -20°C thì hoạt độ của enzym catalaza vẫn ổn định (đến 87,2%) sau 9 tháng bảo quản.

Ví dụ 3. Thử nghiệm khả năng ngăn ngừa bạc tóc (ví dụ từ động vật thực nghiệm)

Để thử nghiệm khả năng ngăn ngừa bạc tóc của chế phẩm, tiến hành thử nghiệm trên mô hình động vật là 20 con chuột hamster màu lông đen.

Đầu tiên tạo được mô hình lông bạc ở 20 chuột hamster đen bằng cách lặp đi lặp lại 1 lần/tháng việc nhổ hoặc cạo lông một diện tích $7 \times 2,5$ cm nhất định trên vùng lưng theo công bố của Mariko và cộng sự (Mariko E., Hitomi A., T. Kobayashi and T. Kunisada (2014) "Prevention of hair graying by factors that promote the growth and differentiation of melanocytes". Journal of Dermatology, 41 (8) 716-723), kết quả là tạo được vùng lông bạc so với các vùng đen xung quang không bị tác động nhổ hoặc cạo lông liên tiếp.

Phương pháp thử nghiệm là bôi chế phẩm thu được từ Ví dụ 1 vào vùng lông có kiểu hình bạc đã được tạo ra, đối chứng được bôi bằng dung dịch đệm kali phosphat 20 mM, pH=7 chứa glyxerol 10%. Liều lượng bôi là 0,2 ml chế phẩm/lần bôi vào vùng lông bạc, 15 phút sau đó được rửa lại bằng nước sạch, thực hiện lặp lại bôi lặp lại sau 2 ngày. Khoảng 1,5 tháng sau khi thử nghiệm, kết quả cho thấy có sự khác biệt giữa chuột bôi chế phẩm với chuột đối chứng, lông ở vùng bôi chế phẩm trở lại màu đen ban đầu giống với các vùng xung quanh (Hình 1, A2 và B2). Theo đó thấy rằng, chuột sau 15 lần (A2) và 16 lần (B2) bôi chế phẩm cho ra kiểu hình lông đen trở lại so với chuột lần đầu bôi chế phẩm, các hình A1 và B1 là các con chuột đối chứng, vẫn mang kiểu hình lông bạc.

Kết quả trên cho thấy chế phẩm theo giải pháp có tác dụng làm giảm bạc lông ở chuột, ở liều dùng trong 1,5 tháng liên tục, 1 lần trong 2 ngày với liều lượng 0,2 ml chế phẩm/ lần bôi.

Hiệu quả đạt được của giải pháp hữu ích

Bằng cách kết hợp các thành phần cao chiết của Hà thủ ô đỏ, Ngũ bội tử và Bồ kế với enzym catalaza và glyxerol, giải pháp cho phép tạo ra chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc có khả năng ngăn ngừa bạc tóc hiệu quả. Quy trình theo giải pháp đơn giản, dễ thực hiện, kết hợp chiết dung môi với rung siêu âm, quy trình cho phép chiết kiệt hoạt chất từ thảo dược trong thời gian ngắn. Ngoài ra, bằng cách phối chế các thành phần với tỷ lệ được tính toán tối ưu, quy trình theo giải pháp cho phép thu được chế phẩm ổn định thích hợp để gọi nhằm ngăn ngừa bạc tóc.

Chế phẩm theo giải pháp hữu ích cho phép tạo ra sản phẩm mới giúp ngăn chặn quá trình bạc tóc, phát triển một sản phẩm mới giúp người sử dụng có một sự lựa chọn mới, ngăn ngừa bạc tóc hiệu quả, giảm được việc sử dụng các hóa chất nhuộm, ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống.

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Quy trình sản xuất chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc, trong đó quy trình này bao gồm các bước:

a) chuẩn bị nguyên liệu bằng cách thu hái từng thành phần bao gồm củ Hà thủ ô đỏ, Ngũ bội tử và quả Bồ kết, cắt nhỏ rồi phơi sấy đến khi khô, sau khi nghiền nhỏ thu được bột củ Hà thủ ô đỏ, bột Ngũ bội tử, bột quả Bồ kết, enzym catalaza được tinh sạch và chuẩn độ đến 3000u/ml;

b) thu cao chiết bằng cách ngâm chiết từng thành phần bột củ Hà thủ ô đỏ, bột Ngũ bội tử và bột quả Bồ kết nêu trên với metanol theo tỷ lệ 50 g/l trong điều kiện siêu âm trong 30 phút, nhiệt độ 50°C, sau khi loại bỏ bã, từng phần dịch được ly tâm với tốc độ 5000-7000 vòng/phút trong 10 phút, lọc bỏ cặn và tiến hành cô trong thiết bị cất quay chân không, thu được phần cao chiết Hà thủ ô, cao chiết Ngũ bội tử và cao chiết Bồ kết ở dạng cao khô, tương ứng; và

c) thu chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc bằng cách chuẩn bị các thành phần theo % trọng lượng như sau:

Enzym catalaza 3000 u/ml:	3 - 5
Cao chiết Hà thủ ô đỏ	0,1 – 0,2
Cao chiết Ngũ bội tử	0,1 – 0,2
Cao chiết Bồ kết	0,1 – 0,2
Glyxerol	9 - 10

Kali phosphat 20 mM, pH=7 84,4 - 87,7.

hòa tan cao chiết Hà thủ ô đỏ, cao chiết Ngũ bội tử và cao chiết Bồ kết với đệm Kali phosphat 20 mM, pH=7, sau khi khuấy đều trong 1 tiếng ở nhiệt độ phòng, bổ sung glyxerol và để ổn định hỗn hợp trong khoảng từ 8 đến 12 giờ ở nhiệt độ 4°C, sau đó điều chỉnh pH=7 rồi bổ sung enzym catalaza đến khi dung dịch đạt hoạt độ khoảng từ 60 đến 300 u/ml và khuấy đều trong 15 phút ở 4°C thu được chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc.

2. Quy trình theo điểm 1, trong đó hoạt lực enzym catalaza trong chế phẩm được điều chỉnh nằm trong khoảng từ 90 đến 150 u/ml.

3. Chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc được sản xuất bằng quy trình theo điểm 1 hoặc 2, trong đó chế phẩm này bao gồm các thành phần theo tỷ lệ % trọng lượng như sau:

Enzym catalaza 3000 u/ml:	3 - 5
Cao chiết Hà thủ ô đỏ	0,1 – 0,2
Cao chiết Ngũ bội tử	0,1 – 0,2
Cao chiết Bồ kết	0,1 – 0,2
Glyxerol	9 - 10

Kali phosphat 20 mM, pH=7 84,4 - 87,7.

4. Chế phẩm để ngăn ngừa bạc tóc theo điểm 3, trong đó hoạt lực enzym catalaza trong chế phẩm nằm trong khoảng từ 90 đến 150 u/ml.

HÌNH 1

