



(12) BẢN MÔ TẢ SÁNG CHẾ THUỘC BẰNG ĐỘC QUYỀN SÁNG CHẾ

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

(11)



1-0036101

(51)^{2020.01} A61K 8/99; A61Q 19/00; A61Q 17/00

(13) B

(21) 1-2020-03481

(22) 16/11/2018

(86) PCT/KR2018/014096 16/11/2018

(87) WO 2019/098752 23/05/2019

(30) 10-2017-0153344 16/11/2017 KR

(45) 26/06/2023 423

(43) 25/11/2020 392A

(73) CJ CHEILJEDANG CORPORATION (KR)

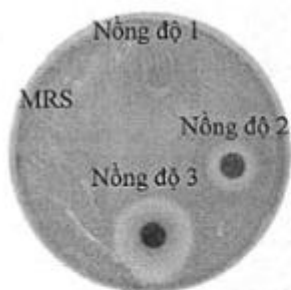
330, Dongho-ro, Jung-gu, Seoul 04560, Republic of Korea

(72) PAEK, Sehee (KR); SEO, Yong Ki (KR); SHIN, Min Kyeong (KR).

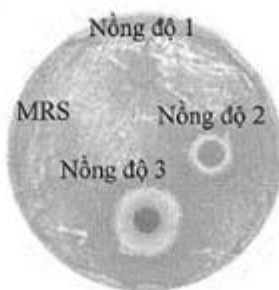
(74) Công ty TNHH Sáng chế ACTIP (ACTIP PATENT LIMITED)

(54) CHẾ PHẨM MỸ PHẨM KHÁNG KHUẨN TRÊN DA CHỨA MÔI TRƯỜNG
NUÔI CẤY LACTOBACILLUS PLANTARUM

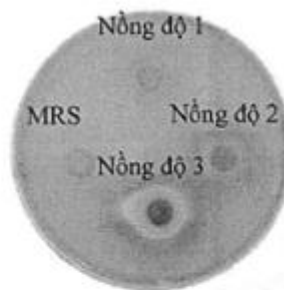
(57) Sáng chế đề xuất chế phẩm mỹ phẩm kháng khuẩn trên da chứa môi trường nuôi cấy
Lactobacillus plantarum.



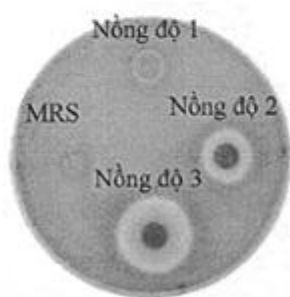
2a



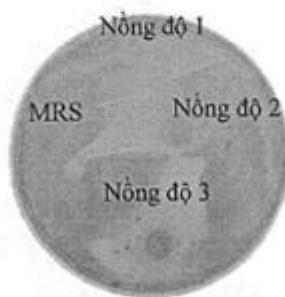
2b



2c



2d



2e

Lĩnh vực kỹ thuật được đề cập

Sáng chế đề cập đến chế phẩm mỹ phẩm có tác dụng kháng khuẩn chứa môi trường nuôi cấy axit lactic duy nhất, và cụ thể hơn, là đề cập đến chế phẩm mỹ phẩm kháng khuẩn trên da chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133.

Tình trạng kỹ thuật của sáng chế

Da người bảo vệ cơ thể khỏi các loại chất oxy hóa, ô nhiễm không khí, các kim loại nặng, bức xạ tia cực tím (UV), v.v., ngăn chặn vi khuẩn, nấm, vi rút, v.v. xâm nhập vào da, và có vai trò như hàng rào bảo vệ chống mất độ ẩm. Cấu trúc da phần lớn được chia thành ba lớp thượng bì, trung bì và mỡ dưới da, và lớp hạ bì, 90% da bao gồm collagen, elastin, axit hyaluronic và glycoprotein. Collagen, thành phần chính của da, là protein sợi quan trọng chiếm khoảng 25% tổng khối lượng protein trong cơ thể con người. Nó cấu thành hầu hết các mô liên kết và có vai trò quan trọng, chẳng hạn như chức năng chất nền gian bào, chức năng hỗ trợ cấu trúc, cảm ứng phân chia và biệt hóa tế bào, cung cấp độ bền kéo của da, v.v.

Ngoài ra, như đã biết rằng các axit béo, các rượu bậc cao, các protein, v.v. có trong bã nhờn và các thành phần mồ hôi thoát ra khỏi cơ thể, và các thành phần mỹ phẩm, có thể bị phân hủy thành các chất độc hại bởi các hệ sinh vật có mặt trên da, do đó gây viêm da, và hơn nữa, các loại bệnh về da (ví dụ, mụn trứng cá, ngứa, viêm da, dị ứng, v.v.) có thể được gây ra do tiếp xúc với nhiễm trùng thứ cấp do vi sinh vật gây ra do tổn thương hàng rào bảo vệ da bởi các tia cực tím từ ánh sáng mặt trời.

Theo đó, vấn đề rất quan trọng trong các mỹ phẩm là tối đa hóa tác dụng của từng thành phần và giảm thiểu tác dụng phụ của chúng để ngăn ngừa lão hóa da. Về vấn đề này, điều cần thiết để phát triển nguyên liệu mang lại hiệu quả về chi phí để ức chế sự phát triển của vi khuẩn có hại và không có các tác dụng phụ, và mỹ phẩm dễ sử dụng chứa nguyên liệu này.

Vi khuẩn axit lactic là vi khuẩn có vai trò có ích trong cơ thể con người để tạo ra axit lactic bằng cách lên men cacbohydrat hoặc chất xơ. Khoảng 400 loài vi khuẩn axit lactic đã được tìm thấy cho đến nay, và khoảng 18 giống đã được phát triển thành các

sản phẩm thương mại.

Khi vi khuẩn axit lactic xâm nhập vào ruột của cơ thể, chúng sẽ tiết ra các nguyên liệu đặc hiệu thông qua các hoạt động trao đổi chất của chính chúng. Vì các nguyên liệu này có tác dụng có ích cho cơ thể con người, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện trên vi khuẩn axit lactic. Các tác dụng của vi khuẩn axit lactic đối với các hoạt động kháng khuẩn, chống oxy hóa và miễn dịch đã được báo cáo. Trong những năm gần đây, các nghiên cứu đã tập trung vào các tác dụng làm trắng và dưỡng ẩm của vi khuẩn axit lactic và khả năng sử dụng làm nguyên liệu mỹ phẩm ngày càng tăng. Trong số các vi khuẩn axit lactic, nhiều nghiên cứu đã được thực hiện liên quan đến tác dụng của *Lactobacillus*, và tăng cường khả năng miễn dịch, các tác dụng kháng khuẩn, làm trắng da, cải thiện viêm da dị ứng, v.v. đã được báo cáo.

Trong số các loại vi khuẩn axit lactic này, vi khuẩn axit lactic có nguồn gốc từ thực vật (POLAB) là vi khuẩn axit lactic phân lập từ các thực phẩm lên men của các nguyên liệu thực vật (ví dụ, dưa chua, kim chi, v.v.) và được phân biệt với vi khuẩn axit lactic có nguồn gốc từ sữa.

Vi khuẩn axit lactic có nguồn gốc thực vật không chỉ bao gồm ít nhất nhiều gấp 10 lần loại vi khuẩn so với vi khuẩn axit lactic động vật, mà chúng còn có khả năng thích nghi tốt với môi trường bên ngoài. Cụ thể, axit lactic thực vật được phân lập từ kim chi, có hàm lượng muối cao, độ pH thấp và hàm lượng các chất kháng khuẩn tự nhiên cao, có thể sinh trưởng trong môi trường khắc nghiệt và do đó vi khuẩn axit lactic có nguồn gốc thực vật có năng suất tối ưu của các loại nguyên liệu hoạt động sinh lý.

Các nguyên liệu hoạt động sinh lý điển hình có thể bao gồm các peptit kháng khuẩn, các chất kích thích miễn dịch, axit amin-*gamma* butyric (GABA), thể hiện các chức năng sinh lý khác nhau bao gồm các tác dụng chống viêm và ức chế miễn dịch, v.v. Ngoài ra, vi khuẩn axit lactic là các peptit bền nhiệt và sản sinh các chất diệt khuẩn, hoạt động như các chất kháng vi sinh vật. Các chất diệt khuẩn, là các protein kháng vi sinh vật tự nhiên hoặc các nguyên liệu protein được sản xuất bởi các loại vi sinh vật, thường đề cập đến các nguyên liệu có cơ chế khử trùng chống lại các chủng vi khuẩn có hình thái và phả hệ giống với các vi sinh vật sản sinh các chất diệt khuẩn. Theo đó, sự phát triển của các nguyên liệu mỹ phẩm sử dụng nuôi cấy vi khuẩn axit lactic có chứa các nguyên liệu này, hoặc các chiết xuất từ thực vật lên men vi khuẩn axit lactic, v.v. đang

tích cực được tiến hành, và tiến trình này phù hợp với xu hướng hiện nay ưu tiên các nguyên liệu an toàn và thân thiện với môi trường.

Ngày nay, người tiêu dùng không chỉ mong đợi các tác dụng chăm sóc thông thường trong mỹ phẩm, mà còn yêu cầu các loại chức năng khác nhau (ví dụ, chống lão hóa, cải thiện nếp nhăn, chống kích ứng, chống viêm, làm trắng da, v.v.).

Trong những năm gần đây, các loại chiết xuất thực vật đã được sử dụng cho mục đích của các loại mỹ phẩm này và ngày càng có nhiều kỳ vọng cho sản phẩm dựa trên khái niệm mới cho thấy một loạt các đặc tính hiệu suất được cải thiện bằng cách kết hợp các loại đặc tính khác nhau.

Các tài liệu của kỹ thuật đã có

Tài liệu Patent

(Tài liệu bằng Patent 1) KR 10-1486999 B1 (2015.01.21)

Bản chất kỹ thuật của sáng chế

Để phù hợp với thời đại thân thiện với môi trường, các tác giả của sáng chế đã nỗ lực nghiên cứu các tác dụng của mỹ phẩm từ môi trường nuôi cấy của vi khuẩn axit lactic có nguồn gốc từ kim chi là an toàn cho da mà không có bất kỳ tác dụng phụ nào và có thể được sử dụng hiệu quả để chăm sóc kháng khuẩn cho da thông qua hoạt tính kháng khuẩn, và ngoài ra, khảo sát khả năng phát triển của chúng trong công nghiệp hóa trong nước. Kết quả là, đã xác nhận rằng môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133 có hoạt tính kháng khuẩn cho da, từ đó hoàn thành sáng chế.

Mục đích của sáng chế là đề xuất chế phẩm mỹ phẩm và phương pháp kháng khuẩn trên da chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133 trong đó các xác vi khuẩn của *Lactobacillus plantarum* CJLP133, được lưu giữ dưới số đăng ký KCTC 11403BP, được loại bỏ.

Hiệu quả đạt được của sáng chế

Sáng chế đề xuất phương pháp để điều chế môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133 an toàn cho da mà không có bất kỳ các tác dụng phụ nào, bằng cách sử dụng chủng *Lactobacillus plantarum* (tức là, vi khuẩn có lợi cho da), và cũng đề xuất chế phẩm với hoạt tính kháng khuẩn chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133

Mô tả vắn tắt các hình vẽ

Fig.1 là đồ thị minh họa các kết quả thử nghiệm hoạt tính kháng khuẩn của môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133; 2a: *Staphylococcus aureus*, 2b: *Staphylococcus epidermidis*, 2c: *E. coli* O157:H7, 2d: *Pseudomonas aeruginosa*, và 2e: *Propionibacterium acnes*.

Mô tả chi tiết sáng chế

Để đạt được các mục đích trên, khía cạnh của sáng chế đề xuất chế phẩm mỹ phẩm kháng khuẩn cho da chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133 trong đó các xác vi khuẩn của *Lactobacillus plantarum* CJLP133, được lưu giữ dưới số đăng ký KCTC 11403BP, được loại bỏ.

Sau đây, chế phẩm mỹ phẩm kháng khuẩn cho da chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* của sáng chế được mô tả chi tiết.

Như được sử dụng trong sáng chế, thuật ngữ “*Lactobacillus plantarum*” đề cập đến một vi khuẩn thuộc chi *Lactobacillus*, là vi khuẩn gram-âm có khả năng sản sinh axit lactic. Nó đã được tìm thấy trong các thực phẩm lên men như dưa cải bắp, dưa chua, kim chi v.v.

Chủng *Lactobacillus plantarum* có thể cụ thể là chủng *Lactobacillus plantarum* CJLP133, và đây có thể là một chủng được lưu giữ dưới số đăng ký KCTC 11403BP.

Cụ thể, chủng *Lactobacillus plantarum* CJLP133 được lưu giữ vào ngày 16 tháng 10 năm 2008, tại Bảo tàng giống chuẩn vi sinh vật Hàn Quốc (KCTC) của Viện nghiên cứu Khoa học sinh học và Công nghệ sinh học Hàn Quốc (KRIBB), cơ quan lưu giữ quốc tế theo Hiệp ước Budapest, và được đăng ký với số đăng ký KCTC 11403BP.

Như được sử dụng trong sáng chế, thuật ngữ “môi trường nuôi cấy” đề cập đến môi trường chứa sản phẩm phụ được sản xuất bằng cách nuôi cấy chủng vi sinh vật trong môi trường ở đó chủng được cho ăn và chuyển hóa các chất dinh dưỡng được chứa trong môi trường. Thuật ngữ “môi trường nuôi cấy” bao gồm toàn bộ các công thức có thể được tạo thành bằng cách sử dụng môi trường (ví dụ, pha loãng hoặc cô đặc môi trường, sản phẩm được sấy khô thu được bằng cách sấy khô môi trường, chế phẩm thô hoặc sản phẩm tinh chế của môi trường, hỗn hợp của chúng, v.v.).

Cụ thể, môi trường nuôi cấy có thể là một trong các môi trường nuôi cấy chủng

Lactobacillus plantarum, hoặc có thể là một trong các môi trường nuôi cấy chủng trong đó các xác vi khuẩn được loại bỏ sau khi nuôi cấy. Đó là, môi trường nuôi cấy trong đó các xác vi khuẩn được loại bỏ có thể được sử dụng như là môi trường nuôi cấy.

Cụ thể hơn, môi trường nuôi cấy có thể được thu được bằng phương pháp bao gồm: (a) nuôi cấy chủng *Lactobacillus plantarum* CJLP133 bằng cách cấy chuyển vào môi trường; (b) ly tâm sản phẩm thu được ở bước (a); và (c) thu hồi phần nổi phía trên từ sản phẩm thu được ở bước (b).

Trong bước (a), môi trường có thể là bất kỳ môi trường nào được sử dụng trong kỹ thuật, miễn là môi trường có thể nuôi cấy chủng và thu hồi môi trường nuôi cấy sau khi nuôi cấy, cụ thể là môi trường lỏng, và cụ thể hơn là môi trường lỏng MRS.

Bước (a), để thu chủng được phân lập thuần khiết, còn có thể bao gồm bước cấy trải chủng *Lactobacillus plantarum* trên môi trường rắn, nuôi cấy và thu thập các khuẩn lạc này được xác nhận là các chủng được phân lập thuần khiết trước bước (a).

Trong bước (b), ly tâm có thể được thực hiện bằng cách sử dụng ly tâm tốc độ cao ở nhiệt độ 1°C đến 7°C, tốt hơn là ở nhiệt độ 2°C đến 6°C, và tốt nhất là ở nhiệt độ 3°C đến 5°C, với tốc độ quay 1.500 vòng/phút đến 3.500 vòng/phút, tốt hơn là 2.000 vòng/phút đến 3.000 vòng/phút, và tốt nhất là 2.200 vòng/phút đến 2.800 vòng/phút, trong 10 đến 30 phút, tốt hơn là 15 đến 25 phút, và tốt nhất là 17 đến 23 phút.

Bước (c) còn có thể bao gồm bước lọc phần nổi phía trên. Ngoài ra, bước (c) còn có thể bao gồm bước nghiền phần nổi được lọc bằng cách sử dụng chất đông khô.

Như được sử dụng trong sáng chế, thuật ngữ “kháng khuẩn” đề cập đến hiệu quả ức chế sự sinh trưởng của vi sinh vật (ví dụ, vi khuẩn liên quan đến bệnh trên da).

Theo sáng chế, môi trường nuôi cấy có thể có hoạt tính kháng khuẩn kháng ít nhất một vi khuẩn được chọn từ nhóm bao gồm *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli* O157:H7, *Pseudomonas aeruginosa*, và *Propionibacterium acnes*, nhưng vi khuẩn không bị giới hạn ở đây.

Ngoài ra, thông qua hoạt tính kháng khuẩn, chế phẩm của sáng chế có thể là chế phẩm có thể cải thiện bệnh trên da do vi khuẩn gây ra.

Như được sử dụng trong sáng chế, thuật ngữ “cải thiện” đề cập đến sự ngăn chặn hoặc ức chế các triệu chứng của bệnh ngoài da do vi khuẩn gây ra, hoặc làm giảm các

triệu chứng của bệnh ngoài da đã xuất hiện trên da bằng cách sử dụng chế phẩm của sáng chế.

Theo sáng chế, chế phẩm mỹ phẩm có thể được tạo thành dưới dạng dung dịch, thuốc mỡ để sử dụng bên ngoài, kem, bột, chất làm mềm dinh dưỡng, chất làm mềm, khăn, nước mềm, sữa dưỡng, kem lót trang điểm, tinh chất, xà phòng, chất tẩy rửa, sữa tắm, kem chống nắng, kem chống nắng chứa dầu, huyền phù, nhũ tương, hồ bột, gel, kem dưỡng, bột, chất tẩy rửa chứa chất hoạt động bề mặt, dầu, phân nền, lớp nền dạng nhũ, sáp nền, miếng đắp, và xịt, nhưng công thức không bị giới hạn ở đây.

Theo sáng chế, chế phẩm mỹ phẩm còn có thể chứa ít nhất một loại chất mang được chấp nhận trong mỹ phẩm để kết hợp vào mỹ phẩm cho da thông thường. Thành phần phổ biến của chất mang được chấp nhận trong ngành mỹ phẩm, ví dụ, dầu, nước, chất hoạt động bề mặt, chất giữ ẩm, rượu bậc thấp, chất làm đặc, chất tạo chelat, chất tạo màu, chất bảo quản, hương liệu, v.v. có thể được trộn thích hợp, nhưng thành phần không bị giới hạn ở đây.

Chất mang được chấp nhận trong mỹ phẩm để kết hợp vào thành phần mỹ phẩm của sáng chế có thể thay đổi tùy theo các công thức của chế phẩm mỹ phẩm.

Khi công thức của sáng chế là thuốc mỡ, hồ bột, kem, hoặc gel, như là thành phần chất mang, dầu động vật, dầu thực vật, sáp, paraffin, tinh bột, nhựa tragacan, dẫn xuất xenluloza, polyetylen glycol, silicon, bentonit, silica, talc, kẽm oxit, v.v. có thể được sử dụng, nhưng thành phần chất mang không được giới hạn ở đây. Các thành phần mang này có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp của hai hoặc nhiều thành phần.

Khi công thức của sáng chế là dạng bột hoặc dạng xịt, thành phần chất mang như là lactoza, talc, silic, nhôm hydroxit, canxi silicat, bột polyamit, v.v. có thể được sử dụng, và cụ thể, trong trường hợp là dạng xịt, công thức còn có thể chứa chất đẩy như là cloflohydrocacbon, propan/butan, và dimetyl ete, nhưng thành phần chất mang không được giới hạn ở đây. Các thành phần chất mang này có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp của hai hoặc nhiều thành phần.

Khi công thức của sáng chế là dạng dung dịch hoặc nhũ tương, thành phần chất mang như là dung môi, chất hòa tan, hoặc chất nhũ hóa (ví dụ, nước, etanol, isopropanol, etyl cacbonat, etyl axetat, rượu benzyl, benzyl benzoat, propylen glycol, dầu 1,3-butyl glycol, v.v.) có thể được sử dụng, và cụ thể dầu hạt bông, dầu đậu phộng, dầu hạt ngô,

dầu oliu, dầu thầu dầu, dầu mè, glyxerol este béo, và polyetylen glycol hoặc este axit béo của sorbitan có thể được sử dụng, nhưng thành phần chất mang không được giới hạn ở đây. Các thành phần chất mang này có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp của hai hoặc nhiều thành phần.

Khi công thức của sáng chế là ở dạng huyền phù, thành phần chất mang như là chất lỏng pha loãng (ví dụ, nước, etanol, hoặc propylen glycol), chất huyền phù (ví dụ, rượu isostearyl ethoxyl hóa, polyoxyetylen sorbitol este, và polyoxyetylen sorbitan este), xenluloza vi tinh thể, nhôm metahydroxit, bentonit, thạch, nhựa tragacan, v.v. có thể được sử dụng, nhưng thành phần chất mang không được giới hạn ở đây. Các thành phần chất mang này có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp của hai hoặc nhiều thành phần.

Khi công thức của sáng chế là dạng xà phòng, thành phần chất mang như là muối kim loại kiềm của axit béo, muối hemieste của axit béo, protein axit béo thủy phân, isethionat, dẫn xuất lanolin, rượu béo, dầu thực vật, glyxerol, sacarit, v.v. có thể được sử dụng, nhưng thành phần chất mang không được giới hạn ở đây. Các thành phần chất mang này có thể được sử dụng riêng lẻ hoặc kết hợp của hai hoặc nhiều thành phần.

Khía cạnh khác của sáng chế đề xuất phương pháp kháng khuẩn cho da bao gồm sử dụng môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* trong đó các xác vi khuẩn được loại bỏ cho đối tượng.

Phương pháp kháng khuẩn trên da có thể là phương pháp bao gồm sử dụng chế phẩm mỹ phẩm chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum*, ngoài ra, chất mang có thể được chấp nhận trong ngành mỹ phẩm cho đối tượng yêu cầu kháng khuẩn trên da. Chất mang có thể được chấp nhận trong ngành mỹ phẩm là giống như mô tả ở trên.

Đối tượng có thể hoặc không bao gồm con người. Cụ thể, đối tượng có thể là động vật có vú bao gồm cả gia súc, lợn, cừu, gà, chó, người, v.v., chim; v.v., và có thể bao gồm bất kỳ đối tượng nào mà nếp nhăn trên da có thể được cải thiện bằng cách sử dụng chế phẩm trên nhưng không bị giới hạn ở đây.

Khía cạnh khác nữa của sáng chế đề xuất sử dụng thành phần để điều chế mỹ phẩm có hoạt tính kháng khuẩn chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* trong đó các xác vi khuẩn của *Lactobacillus plantarum* được loại bỏ.

Ví dụ thực hiện sáng chế

Sau đây, sáng chế sẽ được mô tả chi tiết thông qua các phương án ưu tiên. Tuy nhiên, những người có hiểu biết trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế đề cập hiểu rõ rằng các phương án ưu tiên này chỉ nhằm mục đích minh họa và không nhằm mục đích giới hạn phạm vi của sáng chế.

Ví dụ 1: Điều chế môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133

Chủng *Lactobacillus plantarum* CJLP133 được lưu giữ dưới số đăng ký KCTC 11403BP được cấy trải trên môi trường MRS rắn (BD Difco, thạch Lactobacilli MRS) và được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C trong khoảng 18 giờ. Các khuẩn lạc được phân lập thuần khiết, sau khi xác nhận, đã được thu và được cấy chuyển vào trong môi trường MRS lỏng (BD Difco, canh Lactobacilli MRS) bằng cách sử dụng vòng khuẩn lạc lấy bằng que cấy bạch kim và được nuôi cấy ở nhiệt độ 37°C trong khoảng 18 giờ. Sau khi hoàn thành quá trình nuôi cấy, môi trường nuôi cấy có nồng độ $1,0 \times 10^9$ CFU/mL. Để tách các xác vi khuẩn khỏi môi trường nuôi cấy, môi trường nuôi cấy phải được ly tâm dưới các điều kiện ở nhiệt độ 4°C và tốc độ 2.500 vòng/phút trong 20 phút bằng cách sử dụng máy ly tâm tốc độ cao (LABOGENE 1248R). Sau khi lọc phần nổi của môi trường nuôi cấy, phần nổi đã lọc được nghiền thành bột bằng cách sử dụng chất đông khô (HETO PL90000). Môi trường nuôi cấy được điều chế như trên được gọi là “môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133”.

Ví dụ 2: Xác nhận hoạt tính kháng khuẩn của môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133

Để xác nhận hoạt tính kháng khuẩn của môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133 được điều chế trong ví dụ 1 chống lại tác nhân gây bệnh trên da, các khu vực, các vòng vô khuẩn liên quan đến tác nhân gây bệnh trên da được đo bằng xét nghiệm khuếch tán trên đĩa thạch.

Tổng cộng có năm loại của chủng gây bệnh trên da đã được sử dụng, và *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli* O157:H7, *Pseudomonas aeruginosa*, và *Propionibacterium acnes*, thường được phát hiện trên da, đã được sử dụng. Tất cả 5 loại của chủng gây bệnh trên da được thu từ Bảo tàng giống chuẩn vi sinh vật Hàn Quốc (KCTC) của Viện nghiên cứu Khoa học sinh học và Công nghệ sinh học Hàn Quốc (KRIBB). Các chi tiết về số đăng ký, môi trường, nhiệt độ nuôi cấy, và thời gian nuôi cấy cho từng chủng được thể hiện trong bảng 1.

Propionibacterium acnes được cấy kín trong bể nuôi cấy kỵ khí sử dụng hệ thống nén khí (MITSUBISHI GAS CHEMICAL, AnaeroPack) và được nuôi cấy kỵ khí.

Bảng 1

Chủng	Số đăng ký	Môi trường	Nhiệt độ nuôi cấy	Thời gian nuôi cấy
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	TSA	37°C	24 đến 36 giờ
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	KCTC 1917	TSA	37°C	24 đến 36 giờ
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	ATCC 25922	TSA	37°C	24 đến 36 giờ
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	KCTC 1636	TSA	37°C	24 đến 36 giờ
<i>Propionibacterium acnes</i>	KCTC 3314	RCM	37°C	3 đến 5 ngày

Với nhóm đối chứng, nguyên liệu sử dụng được điều chế bằng cách nghiền môi trường MRS lỏng thông qua quá trình đông khô và sau đó thêm nước cất vô trùng đến nồng độ 0,5 g/mL. Với nhóm thí nghiệm, nguyên liệu sử dụng được điều chế bằng cách thêm nước cất vô trùng vào môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133 đến nồng độ 0,1 g/mL, 0,5 g/mL, và 2,5 g/mL.

Từng chủng gây bệnh trên da được cấy trải trên môi trường (TSA; BD Difco, Thạch Tryptic Soy, RCM; và Môi trường nuôi cấy BD Difco Reinforced Clostridial Medium) ở mật độ $1,0 \times 10^6$ CFU/mL. Sau khi đặt đĩa giấy vô trùng (ADVANTEC, 8 mm) lên trên đĩa trong đó từng chủng đã được cấy trải, nguyên liệu thí nghiệm và nguyên liệu đối chứng được thêm vào lượng 50 μ L mỗi mẫu. Sau khi nuôi cấy từng chủng theo các điều kiện nuôi cấy tương ứng của chúng (bảng 1), đường kính của vòng vô khuẩn (tức là, vùng chết tế bào theo chương trình cho chủng chỉ thị) xung quanh đĩa được đo. Vòng vô khuẩn lớn hơn cho thấy hoạt tính kháng khuẩn cao hơn và vòng vô khuẩn không được tạo thành trong trường hợp không có hoạt tính kháng khuẩn.

Theo kết quả của các thử nghiệm, nhóm đối chứng không tạo thành vòng vô khuẩn, trong khi nhóm thí nghiệm, trong đó môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133 được sử dụng, đã tạo thành các vòng vô khuẩn trong tất cả 5 loại của các chủng, do đó xác nhận rằng môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133 có hoạt tính kháng khuẩn chống lại các tác nhân gây bệnh trên da. Ngoài ra, khi nồng độ môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133 tăng lên, kích thước của vòng vô khuẩn tăng lên, do đó xác nhận rằng hoạt tính kháng khuẩn tăng lên theo cách phụ thuộc vào nồng độ. Các kết quả thử nghiệm được thể hiện trong bảng 2 và Fig.1.

Bảng 2

Chủng	Vòng vô khuẩn (mm)			
	Nhóm đối chứng (MRS, 0,5 g/mL)	Nồng độ 1 (0,1 g/mL)	Nồng độ 2 (0,5 g/mL)	Nồng độ 3 (2,5 g/mL)
<i>Staphylococcus aureus</i>	- (0)	+ (2,0)	++ (10,0)	+++ (19,8)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	- (0)	- (0)	+ (6,0)	+++ (15,0)
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	- (0)	+ (2,0)	+ (6,5)	+++ (14,5)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	- (0)	+ (2,0)	+ (9,0)	+++ (16,8)
<i>Propionibacterium acnes</i>	- (0)	- (0)	++ (11,0)	+++ (18,3)

(-: không có vùng ức chế, +: nhỏ hơn 10,0 mm, ++: 10,0 mm đến 14,0 mm, +++: 14,0 mm đến 18,0 mm, ++++: lớn hơn 18,0 mm).

Từ các kết quả này, đã tìm thấy môi trường nuôi cấy chủng *Lactobacillus plantarum* CJLP133 có hoạt tính kháng khuẩn và do đó được sử dụng để kháng khuẩn trên da.

Từ những điều đã đề cập ở trên, người có hiểu biết trung bình trong cùng lĩnh vực kỹ thuật mà sáng chế đề cập sẽ có thể hiểu rằng sáng chế có thể được thể hiện dưới các hình thức cụ thể khác mà không làm thay đổi các nguyên lý kỹ thuật hoặc các đặc điểm kỹ thuật cơ bản của sáng chế. Về vấn đề này, các phương án ưu tiên được bộc lộ ở đây chỉ nhằm mục đích minh họa và không nên được hiểu là giới hạn phạm vi của sáng chế. Ngược lại, sáng chế không chỉ bao gồm các phương án ưu tiên mà còn bao gồm nhiều phương án, các sửa đổi, tương đương, và các phương án khác có thể được bao gồm trong nguyên lý và phạm vi của sáng chế như được xác định bởi các yêu cầu bảo hộ kèm theo.

Số đăng ký

Tên cơ quan lưu giữ: Viện nghiên cứu Khoa học sinh học và Công nghệ sinh học Hàn Quốc (KRIBB)

Số đăng ký: KCTC 11403BP

Ngày lưu giữ: 9 tháng 10 năm 2008

YÊU CẦU BẢO HỘ

1. Chế phẩm mỹ phẩm kháng khuẩn cho da chứa môi trường nuôi cấy *Lactobacillus plantarum* CJLP133, trong đó loại bỏ các xác vi khuẩn của *Lactobacillus plantarum* CJLP133 được lưu giữ dưới số đăng ký KCTC 11403BP.
2. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó môi trường nuôi cấy được thu bằng phương pháp bao gồm:
 - (a) nuôi cấy chủng *Lactobacillus plantarum* CJLP133 bằng cách cấy chuyển vào môi trường;
 - (b) ly tâm sản phẩm thu được ở bước (a); và
 - (c) thu hồi phần nổi phía trên từ sản phẩm thu được ở bước (b).
3. Chế phẩm theo điểm 1, trong đó môi trường nuôi cấy có hoạt tính kháng khuẩn chống lại ít nhất một loại vi khuẩn được chọn từ nhóm bao gồm *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli* O157:H7, *Pseudomonas aeruginosa*, và *Propionibacterium acnes*.

Fig.1

