

甘肃省大学生创新创业训练计划
项目申报表
(创新训练项目)

推荐学校：甘肃医学院（盖章）

项目名称：平凉市猪肤胶原蛋白提取工艺建立
及纳米乳护肤品初步研制

所属一级学科名称：药 学

项目负责人：杨 毅

联系电话：17393385795

指导教师：王 芳

联系电话：15193361096

申报日期：2019年4月

甘肃省教育厅 制

填写说明

一、申报书要按照要求，逐项认真填写，填写内容必须实事求是，表达明确严谨。

空缺项要填“无”。

二、格式要求：表格中的字体采用小四号宋体，单倍行距；需签字部分由相关人员以黑色钢笔或签字笔签名。

三、填报者须注意页面的排版。

项目名称	平凉市猪肤胶原蛋白提取工艺建立及纳米乳护肤品初步研制							
项目所属一级学科	药 学							
项目实施时间	起始时间：2019 年 5 月 完成时间：2020 年 5 月							
项目简介 (100字以内)	为研究其绿色美容保健的作用和机理，利用酶解超滤法提取胶原蛋肽，以胶原蛋白肽为主要活性物质研制普通护肤品和利于透皮吸收的符合胶原蛋白功能有效发挥的新剂型纳米乳，以正交实验优化其实验条件。通过实验结果比较产品的美肤效果。							
申请人或申请团队		姓名	年级	学号	所在院系/专业	联系电话	E-mail	
	主持人	杨 毅	三年级	2016030234	药学系	17393385795	954810113@qq.com	
		关娅娅	三年级	2016030205	药学系	17393303290	971658833@qq.com	
	成 员	陈海东	二年级	2017030104	药学系	17748976035	2159266658@qq.com	
		马博华	三年级	2016030318	药学系	15293676197	2802306283@qq.com	
刘静		三年级	2016030215	药学系	18193332330	1872463861@qq.com		
指导教师	第一指导教师	姓名	王芳		单位	甘肃医学院		
		年龄	36 岁		专业技术职务	中级		
	主要成果		(1) 主持省教育厅项目《甘肃省居民家庭自我药疗相关知识和行为调查研究》于2017年立项，将于2019年7月结项 (2) 主持市级科技进步奖项目《不同产地大黄中氨基酸含量的测定研究》等。 (3) 指导学生完成的《平凉市居民家庭合理用药的调查》在第十届“挑战杯”甘肃省大学生课外学术科技作品竞赛中荣获“三等奖”					
	第二指导教师	姓名	刘惠娟		单位	甘肃医学院		
		年龄	35 岁		专业技术职务	中级		
主要成果		(1) 药剂学实验教学模式探索. 海峡药学.2017 年 29 卷 7 期 (2) 白花菜巴布剂的制备与其抗炎镇痛活性研究.中国新药杂志.2018 年第 1 期 (3) 指导学生完成的《咪塞米乳剂在大鼠体内的药物动力学研究》在“全国大学生生命科学竞赛”中获优胜奖，2018 年 12 月						

一、申请理由（包括自身具备的知识条件、自己的特长、兴趣、已有的实践创新成果等）

课题所采用的研究技术和实验方法比较成熟。本课题成员在专业课的学习过程中，通过《天然药物化学》学习，已经具备了药物的提取分离技术，通过《生物化学》课程学习已初步具备蛋白质的分离与体外抗氧化活性的测定，通过《药剂学》学习，具备了各种药物剂型如纳米乳的制备，并且将在专业老师的指导下进行。成员力量雄厚：项目负责人及主要参加人员均为青年学者，年富力强，指导教师均为研究生以上学历，研究背景具有很强的互补性，并发表多篇学术论文，为课题完成提供了有力支撑。申请者与参与者一致致力于药物基本理论、药物的提取、剂型的设计与制备等方面的学习与探索，积累了丰富的科研经验。

二、项目方案

具体内容包括：

1、项目研究背景（国内外的研究现状及研究意义、项目已有的基础，与本项目有关的研究积累和已取得的成绩，已具备的条件，尚缺少的条件及方法等）

国内外研究现状及研究意义 胶原蛋白有抗氧化功能、能预防衰老，深受广大爱美保健人士的欢迎。国内外对其研究尚处于提取方法和结构鉴定上；美容保健方面的报道仅止于口服保健品上，但由于胶原蛋白分子量大、口服易分解代谢，起不到满意效果；对于进一步的分离技术研究更少；用在护肤品方面报道不多见。在环境污染备受关注和废弃物再利用深受欢迎的今天，在口服胶原蛋白起不到应有效果的今天，开发利用并改变使用途径使其发挥更好效果将有很大的前景。本文在前期提取研究基础上，优化工艺提取酶解粗液，经膜分离技术和真空冷冻干燥制得纯化胶原蛋白肽冻干粉，检测冻干粉的理化性质和纯度，研制凝胶和面霜2款以胶原蛋白肽为核心原料的护肤品。采用加乳化剂滴定法筛选制备空白纳米乳，综合考虑各因素制备胶原蛋白纳米乳。药理实验对比4种护肤品美肤效果，统计分析胶原蛋白的作用机理。

项目已有的基础及已具备的条件

理论依据可行：猪肤中胶原蛋白丰富，能改善皮肤功能，因不良口感、吸收和消化率低等使其营养及经济价值尚未充分利用。将胶原蛋白提取处理后制备的皮肤外用的纳米乳剂，既避免了其口服时产生的弊端，且充分展现纳米乳透皮吸收优点。研究思路符合逻辑，具有一定探索性和临床研究价值。

技术成熟：课题所采用的研究技术和实验方法比较成熟。本课题成员在专业课的学习过程中，通过《天然药物化学》学习，已经具备了药物的提取分离技术，通过《生物化学》课程学习已初步具备蛋白质的分离与体外抗氧化活性的测定，通过《药剂学》学习，具备了各种药物剂型如纳米乳的制备，并且将在专业老师的指导下进行。

成员力量雄厚：项目负责人及主要参加人员均为青年学者，年富力强，指导教师均为研究生以上学历，研究背景具有很强的互补性，并发表多篇学术论文，为课题完成提供了有力支撑。申请者与参与者一致致力于药物基本理论、药物的提取、剂型的设计与制备等方面的学习与探索，积累了丰富的科研经验。

实验条件、设备完善：课题所需的药物、试剂、实验动物均已具备或可以购买。本课题立足于甘肃医学院重点实验室，尤其药物化学与药剂学实验室药物提取、剂型设计与制备技术非常成熟，药学团队已有多人发表此类相关文章。总之，课题组已具

备充分的各项软、硬件条件，项目的完成是可行的。

尚缺少的条件及方法

本项目尚缺乏相应的药物、试剂、实验动物等，但均可以购买；还缺乏个别的仪器，如电子显微镜等，但是我们相信我们会突破重重困难，可以联系外企或其他大学，协助完成本项目实验。

2、项目研究目标及主要内容

研究目标

(1) 充分利用废弃资源（猪肤），提取分离出其中不同分子量肽段的冻干粉，并对其各组分的抗氧化活性进行测试，为预防和治疗自由基诱发的一些皮肤老化和慢性疾病方面提供理论支持。

(2) 预计本课题完成将申请实用型专利1~2项，在国家级以上期刊发表论文1~2篇。

研究内容

(1) 猪肤胶原蛋白提取、纯化、分离工艺研究及其性质检测。采用经优化的酶解法提取胶原蛋白，纯化之后，首先以羟脯氨酸为标准品对胶原蛋白的提取率与纯度进行测定并计算，再用 SDS-PAGE 电泳等方法对其样品进行结构鉴定；接着将提纯的胶原蛋白进行超滤分离纯化，得到不同分子量肽段的胶原肽酶解液，浓缩冷冻干燥得到冻干粉，再用溶液法对不同分子量的胶原肽进行含量测定，采用不同氧化机制测定不同分子量猪肤胶原肽的抗氧化能力。

(2) 明确猪肤胶原多肽的功效，研制护肤品。从猪肤中提取得到的胶原蛋白天然活性多肽，无毒副作用，生物活性良好；该混合多肽分子量分布较小，易于皮肤吸收利用；具有保护细胞和线粒体的正常结构和功能，起到保湿和防衰老作用。本项目利用其理化特性研制出凝胶和面霜2款常见普通护肤品，在耐寒耐热及交替耐寒耐热试验中循环5次均不出现分层、破乳、粗粒、油水分离等现象，且PH值范围变化不大，气味不出现明显变化，微生物指标均符合《中国药典》规定。

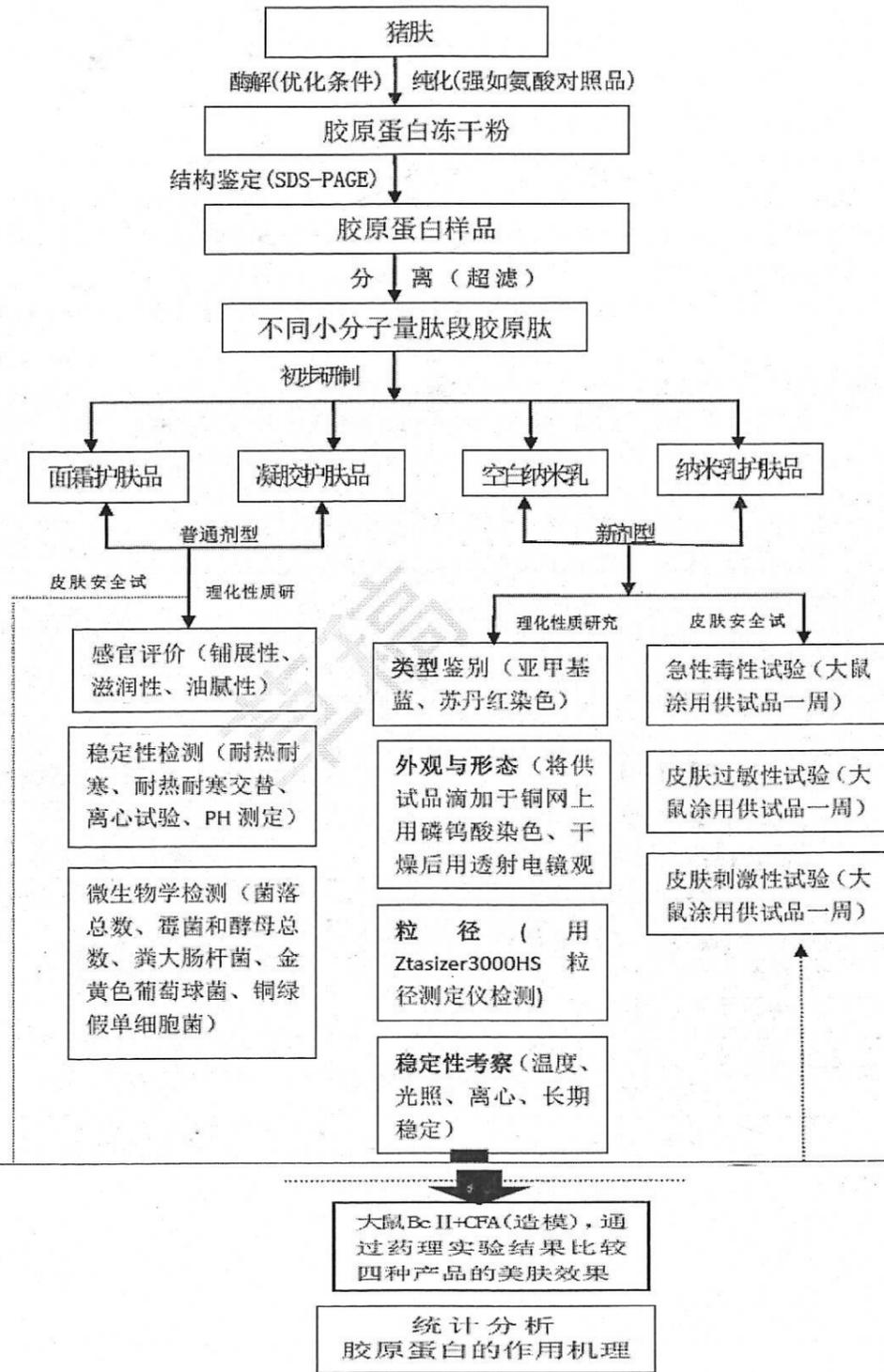
(3) 猪肤胶原多肽纳米乳的研制。普通护肤品由于功效成分、本身粒子较大以及皮肤屏障作用的影响，而难以顺利达到皮肤真皮层，发挥功效。本研究制备的纳米乳平均粒径为137.2 nm，可有效透过皮肤。在纳米乳粒子中，由于表面活性剂的存在，在O/W界面使得内相（油相）具有较大表面积，而整个系统的表面张力较低，这一特点能增强活性物质的透过。

(4) 护肤品临床前动物试验。研究皮肤外用护肤品等经皮涂抹制剂对皮肤的刺激性、敏感性和急性毒性等安全性相关的研究非常重要。本课题刺激性试验是给动物在涂抹受试物后产生的刺激反应情况；皮肤过敏试验是给动物反复涂抹受试物，机体免疫系统经通过皮肤表现的反应；皮肤急性毒性试验反应动物完整皮肤和破损皮肤接触受试物后产生的毒性反应。通过在健康

大鼠模型的急性毒性试验，在完整皮肤及破损皮肤模型中，皮肤单次给药刺激、皮肤多次给药刺激实验中，普通剂型凝胶剂、面霜，空白纳米乳，猪肤多肽纳米乳组的大鼠均未出现过敏反应，都无死亡和异常行为。

3、项目创新特色概述

4、项目研究技术路线



5、研究进度安排

19年5月1日-19年8月30日	查阅文献资料, 设计整个项目试验方案, 撰写可行性报告; 购买试剂, 准备仪器设备, 进行预实验。
19年9月1日-19年12月31日	采用优化的酶解法提取胶原蛋白, 测定并计算胶原蛋白提取率与纯度, 再以SDS-PAGE电泳等方法对胶原蛋白样品进行结构鉴定; 对提取纯化的胶原蛋白进行超滤分离纯化, 浓缩冷冻干燥得到冻干粉, 用溶液法对不同分子量的胶原肽进行含量测定, 采用不同氧化机制测定不同分子量猪皮胶原肽的抗氧化能力。
20年1月1日-20年3月30日	明确猪皮胶原多肽的理化性质, 研制护肤品凝胶和面霜2款常见护肤品, 并进行耐寒耐热及交替耐寒耐热试验体系均不出现分层、破乳、粗粒、油水分离等现象, 且PH值范围变化不大, 气味不出现明显变化, 微生物指标均符合药典规定。研制猪皮胶原多肽纳米乳护肤品, 用动物试验检测其刺激性、敏感性和急性毒性等安全性相关实验。
20年4月1日-20年5月30日	整理资料、整理数据、完善实验过程, 完成相关专利的申请和论文的撰写。

6、项目组成员分工

实验设计	杨毅、陈海东、马博华
购买实验所需材料	关娅娅
课题调研, 文献查阅	陈海东、马博华
资料整理	马博华
化妆品剂型的设计、制备与质量检验	杨毅、陈海东
胶原蛋白的提取工艺建立与考查	关娅娅
胶原蛋白多肽的分离	陈海东、马博华
胶原蛋白肽体外抗氧化活性的测定	杨毅、陈海东
实验资料整理	关娅娅
实验成果(论文)	杨毅、陈海东、关娅娅、马博华

三、学校提供条件（包括项目开展所需的实验实训情况、配套经费、相关扶持政策等）
 本项目依托单位甘肃医学院相关实验室。其中药剂学、药物化学、生物化学、中药学等实验室为省高校合格实验室，仪器设备价值 600 多万元，学校已有真空冷冻干燥机、紫外可见光光度计、气相色谱仪、高效液相色谱仪、高压灭菌锅、多功能粉碎机、酶标仪、透析袋（MD:34,分子截留量：8000~14000mw）、生化培养箱、基础电泳仪、恒温磁力搅拌器、无菌均质器、电热恒温水浴锅、分析天平等仪器，且需要的实验技术相当成熟、完善。已具备充分的软、硬件条件，为本课题的顺利完成提供了人员支持和技术保障。

四、预期成果

1. 预计本课题完成将申请实用型专利 1~2 项；
2. 在国家级以上期刊发表论文 1~2 篇。

五、经费预算

总经费（元）	20000	财政拨款（元）	15000	学校拨款（元）	5000
--------	-------	---------	-------	---------	------

注：总经费、财政拨款、学校拨款由学校按照有关规定核定数目进行填写

科目名称	合计	专项经费	自筹经费
一、经费支出	20000	20000	0
（一）直接费用	19000	19000	0
1. 设备费	3000	3000	0
2. 材料费	3000	3000	0
3. 测试化验加工费	1000	4000	0
4. 燃料动力费	1000	2000	0
5. 差旅费	0	0	0
6. 会议费	0	0	0
7. 国际合作交流费	0	0	0
8. 出版/文献/信息传播/知识产权事务费	8000	9000	0
9. 劳务费	1000	1000	0
10. 专家咨询费	1000	1000	0
11. 其他支出	1000	1000	0
（二）间接费用	1000	1000	0
其中：绩效支出	1000	1000	0

（对各项支出的主要用途和测算理由）：

设备费、材料费、燃料动力费、劳务费指实地采集植物药材过程中产生的费用预计 9000 元；测试化验加工费指在实验室测定提取化学成分时产生的费用，预计 1000 元；发表论文预计 8000 元；专家咨询费和其他预计 1000 元，间接费用预计 1000 元。本项目经费预算共计 20000 元整。

六、导师推荐意见

该团队成员在本科学习阶段，酷爱学习，勤于动手、善于思考，整个学习过程当中已经掌握了与本项目相关的专业知识和技能操作。并且在平时的训练当中学会了用数据库搜集相应的前言文献资料，并且善于总结和归纳，富有创新思维。本项目具有一定的使用价值和创新价值，相关研究也比较匮乏。所需仪器、试剂学校实验室基本可以满足，所需数据库学校图书馆完全可以提供。若有成果，将会在资源合理利用和可持续发展以及医学方面有较显著的作用。

签名：王芳

2019 年 4 月 27 日

七、院系推荐意见

该团队的成员都来自药学专业，学习兴趣浓厚，在大学期间学习成绩优良，富有探索精神，已经参加基础实验课程，参与过全国大学生生命科学竞赛。具备一定的实验能力和实验技巧，善于发现和解决问题。经指导老师的启发指导以及团队成员的集体努力，已经掌握了大量有关目前的相关研究发展动态，经过整理材料与分析，形成了比较完整的项目体系，此项目再国内外尚无深刻的研究，故实验预后有很大的发展潜力，且对扩大中草药药源以及其持续发展有一定意义。

院系负责人签名：

玮赵印中

学院盖章：



2019 年 4 月 27 日

八、学校推荐意见：

同意推荐

学校负责人签名：

王坤印

学校公章



2019年4月28日

注：表格栏高不够可增加。