**公示内容**

**项目名称：**优质牛奶安全生产、评估及其活性物质综合利用

 研究与示范

**完成单位：**陕西师范大学、西北农林科技大学、西安银桥乳

 业（集团）有限公司

**完成人：**刘永峰、昝林森、李林强、辛亚平、李建科、王平、

 李啸林、廖晶、库婷、赵晓微、高俊岭、李佩韦

**项目简介：**

项目以牛奶为主要研究对象，为增加奶业的科技含量，规范奶产品市场，强化企业的技术创新和乳品安全，多元化乳制品种类以及解决消费者对乳品质量担心的后顾之忧，创新开展了以下研究：

（1）基于功能基因及其突变评鉴牛奶及奶制品品质新方法的建立与示范。借鉴利用功能基因及其突变位点评价牛经济指标的成熟方法，建立新型牛奶及奶制品品质评估方法。采用体细胞富集技术、SDS苯酚裂解技术、核酸沉淀技术等改良技术和方法处理新鲜牛奶，优化建立了牛奶中牛基因组DNA的提取方法，牛奶用量可控制在10mL以内，DNA质量完整，可以扩增1000bp以上的长片段基因序列，可以明显避免奶牛应激反应，降低了损失。方法被《Life Science Weekly》、《NewsRx》引用报道并高度肯定，且获得了陕西省第十三届自然科学优秀学术论文三等奖。探索发现了冻藏牛奶在不同解冻条件下保持DNA质量的最好方法为两步法（低温+常温），从而延长了牛奶样品的保藏期。利用候选基因法，鉴定了影响牛奶品质的B2M、STAT5A、CLU、IGF2、BAF60c等功能基因，分析了9个突变位点的基因型与牛奶品质指标的相关关系，并应用于牛奶及奶制品品质的评估。

（2）生鲜牛奶营养成分的近红外光谱快速检测及其冷链贮运过程中品质的评估与应用。采用多功能近红外光谱仪对近300份生鲜牛奶进行光谱扫描，标准化处理后，划分定标集和验证集，分析获得了乳蛋白、乳脂肪、乳糖、尿素氮，以及不同胎次牛奶乳蛋白的最优近红外测定模型，并应用于原料奶检测，样品检测时间可缩短至10秒/样。系统分析了目前我国食品冷链物流行业的发展现状，以及建模技术在牛奶冷链物流中的应用。将生鲜牛奶贮藏在不同温度下，在一定时间段内，通过建立线性回归方程，形成了采用冷链牛奶中牛基因组DNA质量鉴定其脂肪和蛋白质的含量以及新鲜度指标的新方法，从而有利于冷链牛奶品质及新鲜度保持，并申请了国家发明专利。

 （3）牛奶产品规范化生产评估研究与示范。

针对牛奶及奶制品安全问题，突破了液态及固态乳制品中DNA的提取技术以及DNA中核DNA和线粒体DNA的分离技术，从而更好应用于奶制品种类鉴别与掺假，实现规范化生产。牛奶中DNA的完整性、产量以及线粒体DNA的相对含量随着加工程度的加深发生了明显变化；灵敏度实验发现加工方式对于牛奶在羊奶中的定性检测没有影响，均可以检测出0.1%的牛奶成分。建立了一种适合于奶粉中DNA提取的方法，并以此对羊奶粉中牛奶成分进行普通PCR定性检测和定量PCR定量检测，可以从羊奶制品中检测出0.1%的牛奶成分，有利于规范较贵羊奶中添加牛奶成分。还建立了牛奶中线粒体DNA快速提取方法，该方法能够在1小时内提取出足量的线粒体DNA，并应用于原料奶、巴氏灭菌奶（低温奶）、高温灭菌乳制品（保持灭菌奶和UHT奶）的鉴别。

（4）牛奶中活性物质环核苷酸的分离提取、功能评价及乳制品开发。对比分析了三氯乙酸（TCA）和CaCl2沉淀蛋白质后，分离提取cAMP，发现最佳TCA处理浓度为10%、用量4mL；最佳CaCl2浓度0.08%～0.20%、热处理温度80℃，CaCl2法提取cAMP的量是TCA法的2倍且更安全。以安全、高效、优质为原则，在制作奶酪的同时，对奶酪排出的水溶性物质进行cAMP提取，优化出了最佳的兼有半硬质奶酪制作及较高cAMP产量的工艺。植物中也富含该活性物质，项目组筛选出了苹果渣中较高产量cAMP的水提取工艺，探究了浓缩苹果汁生产过程中cAMP含量的分布规律，发现果汁浓缩工艺对cAMP有富集作用，并以此结合牛奶中cAMP富集，开发了乳饮料。开展了外源性cAMP、cGMP的动物评价研究，以小鼠、兔子和秦川牛为对象，通过注射外源cAMP、cGMP及其等量混合物，研究了动物血脂、血糖、血蛋白等指标的动态变化规律，从而为应用环核苷酸调控动物体内营养物质代谢水平提供了有利的理论依据，开发了改善学习记忆能力的新型乳制品。此外，项目组还协助企业开展了牛奶中蛋白质、脂肪等重要营养素的热处理分析和产品稳定性分析，指导西安银桥公司开发了多项新型乳制品。

项目先后得到了国家自然科学基金、陕西省科技新星项目、全国博士后基金、陕西省科技计划、西安市科技计划等项目的资助，通过技术示范和推广，提升了原料奶的品质，增强了企业产品的科技含量，降低了企业乳品生产成本，有利于实现原料牛奶的优质优价，同时增加了牛奶的附加值，经济社会效益明显。

**主要知识产权目录**

 包括15篇代表作及专利、计算机软件著作权等，附后。

**主要论文专著目录（限15条）**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 序号 | 论文专著名称 | 刊名 | 第一完成单位 | 作者 | 年卷页码（xx年xx卷xx页） | 发表时间 | 通讯作者 | 第一作者 |
| 1 | Novel extraction method of genomic DNA suitable for long-fragment amplification from small amounts of milk | Journal of Dairy Science | 陕西师范大学 | Yongfeng Liu, Junling Gao, Yongfang Yang, Ting Ku, Linsen Zan. | 2014, 97(11), 6804–6809 | 2014 | 昝林森 | 刘永峰 |
| 2 | Near-infrared spectroscopy applications in the quantitative determination of bovine genomic DNA content from milk | Food Science and Technology | 陕西师范大学 | Ting Ku, Yongfeng Liu, Junling Gao, Shuanghong Li. | 2015, 3(4), 49-55 | 2015 | 刘永峰 | 库婷 |
| 3 | Relationships between viscosity and the contents of macromolecular substances from milk with different storage styles | Food Science and Technology | 陕西师范大学 | Ting Ku, Yongfeng Liu, Tianli Gao, Luhua Zhao | 2016, 4(4), 49-56 | 2016 | 刘永峰 | 库婷 |
| 4 | ZBTB38 gene polymorphism associated with body measurement traits in native Chinese cattle breeds | Gene | 陕西师范大学 | Yongfeng Liu, Linsen Zan, Fang Wei, Dengke Liu, Yaping Xin, Wanqiang Tian. | 2013, 513(2), 272-277 | 2013 | 昝林森 | 刘永峰 |
| 5 | Molecular characterization, expression pattern, polymorphism and association analysis of bovine ADAMTSL3 gene | Molecular Biology Report | 西北农林科技大学 | Yongfeng Liu, Linsen Zan, Yaping Xin, Wanqiang Tian, Linqiang Li, Hongcheng Wang | 2012, 39(5), 1551-1560 | 2012 | 昝林森 | 刘永峰 |
| 6 | Qualitative and quantitative identification of adulteration of milk powder using DNA extracted with a novel method | Journal of Dairy Science | 陕西师范大学 | Jing Liao, Yongfeng Liu, Ting Ku, Minhao Liu, Yan Huang | 2017, 100(3), 1657-1663 | 2017 | 刘永峰 | 廖晶 |
| 7 | Development of a rapid mitochondrial DNA extraction method for milk and milk products species identification | Journal of Dairy Science | 陕西师范大学 | Jing Liao, Yongfeng Liu, Li Yang, Peifen Li, Allan Michael Sheppard | 2017, 100(9), 7035-7040 | 2017 | 刘永峰 | 廖晶 |
| 8 | Molecular cloning, characterization and association analysis of the promoter region of the bovine CDK6 gene | Genetics and Molecular Research | 西北农林科技大学 | Yongfeng Liu, Linsen Zan, Wentao Cui, Yaping Xin, Yang Jiao, Kui Li. | 2011, 10(3), 1777-1786 | 2011 | 昝林森 | 刘永峰 |
| 9 | Exogenous cycilc AMP and cycilc GMP influence the metabolism of traces of tritium labeled glycerol in rabbits | African Journal of Biotechnology | 西北农林科技大学 | Yongfeng Liu, Linsen Zan, Fang Wei, Dengke Liu, Yaping Xin, Wanqiang Tian. | 2009, 8(17), 4277-4283 | 2009 | 昝林森 | 刘永峰 |
| 10 | A novel polymorphism of GDF5 gene and its association with body measurement traits in Bos taurus and Bos indicus breeds | Molecular Biology Report | 西北农林科技大学 | Yong Feng Liu, Lin Sen Zan, Kui Li, Shuan Ping Zhao, Ya Ping Xin, Qing Lin, Wan Qiang Tian, Zhi Wei Wang | 2010, 37(1), 429-434 | 2010 | 昝林森 | 刘永峰 |
| 11 | Molecular cloning, expression and characterization of bovine UQCC and its association with body measurement trait | Molecules and Cells | 西北农林科技大学 | Yongfeng Liu, Linsen Zan, Shuanping Zhao, Honggang Huang, Yong Li, Zhonglin Tang, Shulin Yang, Kui Li. | 2010, 30(5), 393-401 | 2010 | 昝林森 | 刘永峰 |
| 12 | Molecular characterization, polymorphism of bovine ZBTB38 gene and association with body measurement traits in native Chinese cattle breeds | Molecular Biology Report | 西北农林科技大学 | Yongfeng Liu, Linsen Zan, Shuanping Zhao, Yaping Xin, Linqiang Li, Wentao Cui, Zhonglin Tang, Kui Li | 2010, 37(8), 4041-4049 | 2010 | 昝林森 | 刘永峰 |
| 13 | Molecular characterization, polymorphism of growth differentiate factor 5 gene and association with ultrasound measurement traits in native Chinese cattle breeds | African Journal of Biotechnology | 西北农林科技大学 | Yongfeng Liu, Yang Jiao, Linsen Zan, Yaping Xin, Linqiang Li, Wanqiang Tian. | 2010, 9(33), 5269-5273 | 2010 | 昝林森 | 刘永峰 |
| 14 | Genetic diversity of Y-short tandem repeats in chinese native cattle breeds | Genetics and Molecular Research | 西北农林科技大学 | Yaping Xin, Linsen Zan, Yongfeng Liu, Wanqiang Tian, Hongbao Wang, Gong Cheng, Anning Li, Wucai Yang | 2014, 13(4), 9578-9587 | 2014 | 昝林森 | 辛亚平 |
| 15 | 牛羊乳热处理蛋白质变性程度比较及机理分析 | 西北农林科技大学学报（自然科学版） | 陕西师范大学 | 李林强，朱莉莉，万威，王亮，田苏辉，田万强 | 2016，44（11），149-154+160 | 2016 | 李林强 | 李林强 |

**主要知识产权证明目录（限10条）**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 知识产权类别 | 知识产权具体名称 | 国家（地区） | 授权号 | 授权日期 | 证书编号 | 权利人 | 发明人 | 专利有效状态 |
| 发明专利 | 一种改善学习记忆能力的乳制品、制备方法及其应用 | 中国 | ZL 201410472112.7 | 201702 | 2365238 | 陕西师范大学 | 刘永峰，赵晓微 | 有效 |
| 发明专利 | 一种用ZBTB38基因检测黄牛体型大小的方法 | 中国 | ZL 201010274180.4 | 201207 | 1011273 | 西北农林科技大学 | 刘永峰，昝林森 | 有效 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |