**附件2**

《植物蛋白饮料多种植物源性成分快速检测 数字微流控芯片法》团体标准（征求意见稿）编制说明

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1. **任务来源及起草单位** 2. **任务来源**   为贯彻落实2022年6月30日工业和信息化部等五部门《数字化助力消费品工业“三品”行动方案（2022-2025年）》，引导我省食品行业的高质量发展，根据《广东省食品行业协会团体标准管理办法（修订版）》的规定，由广东省食品行业协会质量专业委员会和广州市食品检验所共同提出广东省食品行业协会团体标准《植物蛋白饮料多种植物源性成分快速检测 数字微流控芯片法》，通过广东省食品工业标准化技术委员会秘书处立项审查和和征求意见，并批准立项。   1. **起草单位及人员名单**   本标准起草单位为广东省食品行业协会质量专业委员会、广州市食品检验所、珠海市迪奇孚瑞生物科技有限公司、无限极（中国）有限公司、广州质量监督检测研究院、广东省食品检验所、广州海关技术中心、广东省粮食科学研究所、珠海市香洲区疾病预防控制中心、东莞市蜂乜保健食品有限公司。各起草单位分别推荐从事标准化或《植物蛋白饮料多种植物源性成分快速检测-数字微流控芯片法》研发、生产、质量管理、验证的人员作为标准起草人，组成起草组，包括张俊修、肖剑、陈天蓝、黄延盛、梁美丹、陈荣桥、丁清龙、凌莉、郭超、彭程、刘耀军、冼钰茵、苏妙贞、胡均鹏、陆智、陈楷、林秀敏、寇秀颖、郑砚泽、曾初欢、汪良清等。   1. **起草组分工**   张俊修为名誉组长，肖剑为执行组长。负责统筹、设计、起草、审核，其他人员负责协助收集有关资料，配合产品试产和相关指标测试，标准内容的修改，参与调研并进行讨论，集合各方意见等工作。   1. **其他需要说明的问题**   无   1. **标准制订的目的和意义**   植物蛋白饮料是以植物果仁、果肉及大豆为原料（如大豆、花生、杏仁、核桃仁、椰子等），经加工、调配后，再经高压杀菌或无菌包装制得的乳状饮料，其具有不含或含较少的胆固醇，富含蛋白质、氨基酸及适量的不饱和脂肪酸，营养成分较全等特点，深受消费者欢迎，已经成为饮料市场上不可或缺的产品。根据统计数据显示，2007年以来各饮料子行业增速最快的是植物蛋白饮料，2016年植物蛋白饮料行业收入为1217.2亿元，2016年至2020年，逐渐趋于稳定趋势。根据中研普华研究院《[2022-2027年中国植物蛋白饮料行业市场全景调研及投资价值评估研究报告](https://www.chinairn.com/report/20220711/113802396.html?id=1842112&name=yangxianyu" \t "https://www.chinairn.com/hyzx/20220711/_blank)》分析，未来核桃乳、燕麦乳等功能性植物蛋白饮料反响热烈，将健康等内容注入现代消费人群的消费观念和生活方式中，我国植物蛋白饮料市场有望焕发新的活力。但随着植物蛋白质饮料原料价格的上涨，部分生产企业为了降低生产成本，在饮料中掺入廉价的植物蛋白粉，或者掺入成本低廉的非产品标识的植物原料，如央视在2018年3·15晚会中，曝光了多家企业在生产核桃露时没有使用核桃浆，而使用成本远远低于核桃浆的花生酱或核桃香精代替，上述行为严重扰乱社会市场秩序，损害消费者的合法权益。目前，植物蛋白饮料市场掺杂使假情况比较严重，群众关注度高，有研究表明，市场上35%蛋白质饮料标识的植物源性成分未检出，存在与产品标识成分及含量严重不相符的情况。  因此，鉴于目前对植物蛋白饮料中植物源性成分检测无国家标准方法，相关参考方法检验效率较低，不能实现同时对植物蛋白饮料中多种源性成分进行高通量快速鉴别，监管部门不能准确、快速认定产品是否具有掺假行为，给人民生活质量和安全带来不稳定的因素，当前非常迫切建立一个针对植物蛋白饮料多种植物源性成分鉴定的高通量检测技术标准方法，便于行政监督管理，保障消费者利益。   1. **编制过程**   **（一）起草阶段**  **1.标准立项。**2022年8月11日-8月31日，按照《广东省食品行业协会团体标准管理办法（修订版）》要求和相关程序，经广东省食品工业标准化技术委员会秘书处进行了立项审查、公示，确认符合立项条件，并于8月31日批准立项。确定参加标准起草的工作组成员及专家，标准研制工作正式启动。  **2.资料收集。**2022年8月12日-8月20日，标准起草组首先收集相关标准、法规等文献资料，掌握了有关标准现状；并对我国现有检测相关标准中的术语、指标等技术内容进行了归纳和总结，为标准文本的编制奠定理论基础。  **3.标准方法技术确认及方法验证。**2022年3-9月，确定植物蛋白饮料源性成分高通量快速检测的技术路线，选定检测靶标对象，设计引物，确定核酸提取技术，确定反应体系，验证引物及体系的特异性和稳定性，并开展微流控芯片的设计和研制，在实验室进行特异性、灵敏度和稳定性实验，同时开展模拟样本和实际样本的测试，并在有资质的4家食品检验机构开展验证。在参阅现有标准和参考检验方法及文献基础上，确定标准制订原则、主要采用技术、标准内容等。  **4.标准起草。**2022年9月，根据国家对标准化文件起草要求，各研究进展文献，参照实验室验证试验及检验方法实际运用情况，标准起草工作组成员编制《植物蛋白饮料多种植物源性成分快速检测 数字微流控芯片法》（T/GFPU XXXX-2022）标准文本和编制说明。  **（二）征求意见阶段**  2022年9月30日-10月31日，起草工作组就前期研究情况和标准编制进行交流，重点针对主要技术内容和指标设置进行充分讨论，基本达成一致意见，在此基础上，完善标准文本，形成了标准征求意见稿。  起草工作组将征求意见稿发给广东省食品行业协会及相关专家并在全国团体标准信息平台（http://www.ttbz.org.cn/）和南方食品医药网（http://www.southfp.com/）面向社会公开征集意见。   1. **标准制订的基本原则和依据**   （一）标准编制原则  本标准立足于完善和提高植物蛋白饮料行业中的检测标准，为植物蛋白饮料中掺杂使假问题提供有效的品质鉴别手段，同时考虑规范植物蛋白饮料行业秩序，促进企业提升产品品质，保障消费者合法权益。本标准以植物蛋白饮料作为研究对象，针对植物蛋白饮料常见的大豆、核桃、榛子、花生、杏仁、椰子成分设计LAMP特异性引物，建立数字微流控芯片恒温扩增快速检测方法，为规范植物蛋白饮料生产、加工、流通秩序提供技术支持。  （二）标准制定依据  通过查找国内文献及标准情况，国内外无针对植物蛋白饮料中植物源性成分同时鉴定的高通量检测标准方法。参考T/ZACA 031—2020《食源性致病菌快速检测微流控芯片法》、SN/T 5336—2020《猪瘟病毒及非洲猪瘟病毒检测微流控芯片法》、补充检验方法BJS 201707《植物蛋白饮料中植物源性成分鉴定》、SN/T 1961系列出口食品过敏源食物成分荧光PCR行业标准及SN/T 4419系列出口食品过敏原食品成分LAMP行业标准。  欧盟、美国和澳大利亚及AOAC均未制定植物蛋白饮料中植物源性成分的检测标准。参考欧盟食品类别具体的成分检测方法（辐照食品成分检测方法、酒精饮料的分析方法、陆生无脊椎动物成分检测方法等），澳大利亚标准协会与标志物检测相关的标准《食品-分子生物标志物分析-蛋白质的检测和定量的免疫化学方法》（ISO 21572：2019），AOAC建立LC-MS/MS测定方法通过氨基酸测序进行蛋白质鉴定并制定了原料和成品中豌豆、大米和大豆蛋白的鉴定方法（AOAC 2017.11—2017）。  （三）其他参考资料  本标准起草过程中，主要按照GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》进行编写。本标准制定过程中，主要参考了以下标准或文件：  GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法  GB 19489 实验室生物安全通用要求  GB/T 27403 实验室质量控制规范 食品分子生物学检测  GB/T 19495.2 转基因产品检测 实验室技术要求   1. **主要章、条确定的原则**   **1.范围**  根据当前市场上销售含主要植物源性成分的蛋白饮料品种，及方案采用的芯片技术原理和设计使用要求，本标准规定了大豆、核桃、榛子、花生、杏仁、椰子作为检测对象，明确标准方法适用于植物蛋白饮料中上述6种源性成分的快速检测。  **2.术语、定义和缩略词**  标准文本重点介绍了数字微流控芯片技术的定义。微流控技术是涉及化学、流体物理、微电子、新材料、生物学和生物医学工程的新兴交叉学，是近年来兴起的应用于食品、医学检测的新兴技术，能够实现多靶标或多样本的高通量检测，同时满足检验高度集约化，能够显著降低对实验室环境及仪器设备的依赖程度，与未来检验技术的发展方向高度契合。目前主要有两种形式技术产品，一种是依赖微泵、微阀或微混合器等元件，通过离心力作用实现样本注入混合的圆盘式产品，一种是利用电浸润原理电子芯片，通过计算机程序控制微电极阵列上液滴表面张力实现精准移液。本标准采用电子芯片微流控技术，该技术移液精准均匀，稳定性好，成本低。具体的定义如下：  数字微流控芯片技术（Digital microfluidic chip）：利用液滴在疏水表面的介电湿润现象，通过电子电路控制液体表面张力，实现离散液滴的精准控制，结合引物试剂预包埋，LAMP技术，实现将配液、分装、检测等操作在封闭的芯片内自动进行。  另外，根据标准中使用的试剂及分子检测常用名词，相关缩略词如下：  *Bst*：嗜热脂肪芽胞杆菌（*Bacillus stearothermophilus*）  DNA：脱氧核糖核酸（deoxyribonuleic acid）  RNA：核糖核酸（ribonucleic acid）  Tris-HCl：三羟甲基氨基甲烷-盐酸（tris （Thdroxymethyl）aminomethane-hydrochloric acid）  EDTA：乙二胺四乙酸（ethylene diaminetetraacetic acid）  Na2EDTA：乙二胺四乙酸二钠（Ethylenediamine tetraacetic acid disodium）  Tt：时间阈值（time threshold）  **3.原理**  本标准方法制定的目标是实现样本中多靶标检测，同时能够实现现场快速检测，不依赖昂贵的仪器设备，检测设备能够随时移动，减少试剂保存及实验操作环境要求。微流控芯片技术源于上世纪90年代Manz等提出的微型全分析系统的概念，主要是指采用微机电系统技术在方寸大小的芯片上加工微米至纳米尺度的微通道网络，通过微尺度下流体的精确操控，在芯片上实现样品引入、前处理、混合、化学反应、分离、检测等功能，其系统具有微量、高效、成本低、微型化、集成化、高通量、自动化等特点。环介导等温扩增技术（Loop-mediated isothermal amplification, LAMP）最早是日本学者Notomi博士在《Nucleic Acids Res》公开一种适用于基因诊断的恒温核酸扩增技术，该技术主要原理是利用具有链置换特异性的*Bst* DNA聚合酶和四~六条能够特异性识别靶标序列上多个特异性区域（F3、F2、F1、B1、B2、B3）的引物，开启循环链置换反应，从而实现等温条件下的连续快速反应，因此，该技术具有特异性强、灵敏度高、检测成本低、所需设备及人员要求不高，操作简单，反应时间短等优点。因此，通过技术分析和研究，利用微流控技术的高效多靶标、自动化操作反应、防污染特点，结合LAMP恒温快速扩增优势，组合成微流控芯片+LAMP合成检验技术。具体使用的技术原理见图1、图2，    图1 芯片内部结构及移液过程  QQ截图20220917141613  图2 LAMP扩增原理  依据以上技术机理，本标准方法具体过程原理如下：  针对植物蛋白饮料常见的大豆、核桃、榛子、花生、杏仁、椰子成分设计LAMP特异性性引物，并将其分别固定在微流控芯片的相应位置后，对数字微流控芯片进行封装，将提取的植物蛋白饮料DNA与恒温扩增反应液混合后，加入微流控芯片中进行63 ℃恒温扩增反应，通过微流控芯片检测仪实时检测荧光信号，扩增产物随着荧光信号出现的时间、强度和位置，判断样本中是否含有目标植物源性成分。  **4.试剂与材料**  **4.1 引物**  本标准中使用的扩增引物，根据相关文献及参考标准中的方法，确定6种植物源性成分常用的保守性持家基因，大豆选用*Lectin*基因，核桃选用*vicilin-like protein precursor*基因，榛子选用*Ca8*基因，花生选用*Arah 2.02*基因，杏仁选择*PR5-1*基因，椰子选用*Hd3a*基因，将选择基因放在NCBI网站上进行序列比对，确立了物种的保守基因序列位置，再将保守基因下载保存为.FASTA格式，利用PrimerExplorer V4软件，设计LAMP反应引物，每一个成分引物有5-6条序列组成，包括有上游外部引物(F3)、下游外部引物(B3)、上游内引物（FIP）、下游内引物(BIP)、上游环引物(LF)、下游环引物（LB），每个物种靶标序列均设计出多组LAMP引物，通过对引物的特异性及灵敏度验证，选择最优一组引物，详见表1。  表1 六种植物源性成分LAMP引物序列   | 物种 | 靶标基因 | 引物名称 | 引物序列 | | --- | --- | --- | --- | | 大豆 | *Lectin* | F3 | GGCAAATAATATGATACCTGAACT | | B3 | AGAGTGAAAAGCTACCCAAT | | FIP | GAGTACCAAAGCTTGCAAATGCGCACTTACATTGTCAACAAGG | | BIP | AGGAGGTAGTTGTCAGAATTTTTCTTAGAGTTTACCTCAGAAACTATCG | | LB | AGAGGAAACTGCCATGCACC | | 核桃 | *vicilin-like protein precursor* | F3 | TCCCAGAGCATTAGGTCGA | | B3 | ACTAAGGTGAGGGTCGCC | | FIP | CACGAAGGAGCTCGGTTCTCTCTGAGTCCGAGGAAGGTGAAG | | BIP | TCCTAACACCTCCATGCTCCCATCCTCTTGTGACTACGGCA | | LF | CATCACAAAGATGCGGAATCTGT | | 榛子 | *Ca8* | F3 | CATGAGTCTGATCTCTCTTCA | | B3 | GTGAGCGTAGCTGTGAGA | | FIP | TTGCATGTAGACGAAGGGGCACAGACTTAAATCAGACAAAAAGC | | BIP | CTGCATGAAAACTTCCTAACACGTGGGTTTTATATAGAAGGAGGCT | | LB | CCCCTTTTTCAACACGCACC | | 花生 | *Arah 2.02* | F3 | AACATCTCATTGATTATACCACA | | B3 | GGTATTTATAGGTGAAAGGAGG | | FIP | CTTCCACGTTACATTTTCATGCAAAACAACATGGCATGCTTAGG | | BIP | TAATGAAGCAAACACAGCCACCATTTTGCATGTGAGGTACG | | LF | GTCCAAGATGCCTTTTTGTTTGGTA | | LB | CTCCTTCCCCCTTTCCCTT | | 杏仁 | *PR5-1* | F3 | TCAACCACAGGGTTCAAGTT | | B3 | GCTAAAGTTGTCGGCGGAAT | | FIP | CATCCAGTTCGGGCCCAGAAG-CCCCATGCTAGATTCAAGCT | | BIP | TATGGAAAGTTCGTCTGCGCCA-GACCGTTACCGTTGCACTT | | LF | ATGGCACCGGAGTGTGT | | LB | CAGACTGTGCCTCCGGTCAG | | 椰子 | *Hd3a* | F3 | CTCCAAGTCCAAGTGACC | | B3 | GTGGAGCTAGTTTTGTTCC | | FIP | CATGGCTTCCCGATGGGTACCTCAGGGAGTATTTGCACTG | | BIP | GCTATATATTGGGCCGGACTTCGCAATCTCTTCTCTTCCTTGT | | LF | ACTCTTCAGCGGGTGCTTAC |   **4.2 检测试剂预混液（附录A）**  通过查询相关文献，甜菜碱浓度、dNTPs浓度、镁离子浓度、*Bst*聚合酶，染料浓度是影响LAMP扩增效果的重要因素，因此，标准起草组在研究过程中，通过各种成分不同浓度多个水平正交实验，首先开展单个靶标的特异性检测、灵敏度检测、稳定性检测、实际样品检测，确定每个单一成分的最优体系组合，最后对整个体系进行优化，调整具有明显差异的成分浓度，最终确定植物蛋白饮料6种植物源性成分微流控芯片检测的最佳LAMP恒温扩增体系，详见表2。  表2 数字微流控芯片检测试剂预混液组分表   |  |  | | --- | --- | | 组分 | 体积（μL） | | LAMP恒温荧光扩增预混液（含甜菜碱、dNTPs、MgSO4、*Bst*聚合酶、SYTO-9染料） | 20 | | 样品DNA模板 | 5 | | 总体积 | 25 | | 注：引物已预先固定到微流控芯片上，最终微流控芯片中的反应体系含反应所需的引物。 | |   芯片中预包埋引物混合液总计为1μL，通过查询相关文献及实验验证，各引物（内引物（FIP/BIP）、外引物（F3/B3）、环引物（LB/LF））含量最佳比例为8：1：4，按照表3组合配制引物混合物，能达到比较好的扩增效率，若有检验靶标无环引物（LF/LB），按照表中体积，用无菌双蒸水来代替，表3为一个反应中加入各引物的量，由于一个反应加入各引物的体积非常小，为了减少误差，可根据实际实验样品量，等比例扩大100倍、200倍来配制引物混合液。  表3 数字微流控芯片的引物混合固定体系   |  |  | | --- | --- | | 组分 | 体积（μL） | | F3（Forward Outer Primer）上游外部引物（100 μmol/L） | 0.05 | | B3（Backward Outer Primer）下游外部引物（100 μmol/L） | 0.05 | | FIP（Forward Inner Primer）上游内部引物（200 μmol/L） | 0.2 | | BIP（Backward Inner Primer）下游内部引物（200 μmol/L） | 0.2 | | LF（Forward Ring Primer）上游环引物（200 μmol/L） | 0.1 | | LB（Backward Ring Primer）下游环引物（200 μmol/L） | 0.1 | | ddH2O | 0.3 |   **4.4其他试剂**  其他相关试剂和材料均采用常规分子检测要求来设置，所用试剂、耗材均应不含DNA和DNase；试剂为分析纯、生化试剂；实验用水为GB/T 6682中规定的一级水。主要试剂为CTAB提取液（20 g/L CTAB，1.4 mol/L NaCl，20 mmol/L Na2EDTA，0.1 mol/L Tris，用10%盐酸调节pH至8.0，121 ℃高压灭菌15 min）；氯仿/异戊醇（V/V，24:1）；三氯甲烷；CTAB沉淀液（5 g/L CTAB ，40 mmol/L NaCl）；NaCl（1 mol/L）；TE溶液（10mmol/L Tris-HCl（pH 8.0），1 mmol/L EDTA（pH 8.0））；RNA 酶（10 mg/μL）；蛋白酶 K（20 mg/mL）；异丙醇；磁珠溶液；去蛋白液；70 %乙醇（V/V）。  **5.仪器设备**  根据本标准方法需求，基本使用分子检测常用仪器设备，一般具备食品分子检测的实验室都能够满足要求。微流控芯片检测仪设备简单、操作方便、价格便宜，容易获得，仪器能够用来作为相同规格芯片的其他靶标检测。具体设备要求如下：冰箱：2 ℃~8 ℃、-20 ℃±5 ℃；漩涡混合仪；电子天平：感量0.1 g；高速离心机：12 000 r/min；恒温金属浴；生物安全柜；核酸蛋白分析仪；磁力架；微流控芯片检测仪；微量移液器：0.5 μL~10 μL、2 μL~20 μL、10 μL~100 μL、20 μL~200 μL、100 μL~1000 μL。   1. **检测方法**   **6.1 核酸提取**  目前，市场上还未有植物蛋白饮料DNA提取的试剂盒，植物蛋白饮料由于经过高温、高压及化学处理，对其植物源性成分DNA的破坏性较大，植物蛋白饮料本身含植物源性成分的量较少，造成植物蛋白总DNA提取具有一定的难度。磁珠法提取的DNA具有高效、快速、高通量等优点，可实现痕量物质DNA的高效提取，通过反复实验，对于提取效果进行验证，选择了具有代表性的硅羟基化修饰磁珠。同时，植物蛋白饮料提取的DNA往往容易蛋白质污染，即DNA中的蛋白质含量未除干净，导致所提取的DNA质量不佳，对于普通样本，本标准采用1次氯仿/异戊醇的抽提，1次去蛋白液的洗涤，2次70%乙醇洗涤；对于蛋白质和脂肪含量较高的样品，采用CTAB沉淀DNA，再用NaCl溶解沉淀，三氯甲烷再次抽提，可提高植物蛋白饮料DNA的提取率及质量。6种不同植物原料制作的蛋白饮料成分差异性较大，很难制定统一的提取方法。通过系列实验的摸索，建立了磁珠法提取结合化学试剂提取DNA的方法，具体步骤如下：  （1）固体样品按照说明书冲调至液体状态，含固型物样品则将固型物均质后取样，液体样品直接吸取植物蛋白饮料0.5-1mL至灭菌离心管中。  （2）加入1 mL CTAB提取缓冲液，10 μL RNA酶和20 μL蛋白酶K，振荡混匀，65 ℃孵育1 h以上，期间上下颠倒混匀4~5次。  （3）加入600 μL氯仿/异戊醇混合液，充分振荡混匀30 s，12000 r/min离心10 min，取上清液于洁净的离心管中，注意不要吸到上清液下面的蛋白层。  注意：蛋白质和脂肪含量高的样品，需要增加以下步骤提取效果较佳，具体方法为：加入2倍体积CTAB沉淀液，混匀后室温静置60 min后，12000 r/min离心10 min；弃去上清液，加入350 μL 1 mol/L NaCl溶液充分溶解沉淀；加入350 μL三氯甲烷，高速漩涡振荡混匀，12000 r/min离心10 min，取上清。   1. 加入等0.8倍体积冰上预冷的异丙醇，15 μL磁珠悬浮液，充分混匀后，静置15 min，将离心管置于磁力架静置1 min，弃去废液。 2. 加入500 μL 去蛋白液，充分混匀后，将离心管置于磁力架静置1 min，弃去废液。 3. 加入70 %乙醇，充分混匀后，将离心管置于磁力架静置1 min，弃去废液。   （7）重复操作步骤6，将吸附DNA的磁珠于室温干燥5 min。  （8）加入50 μL TE溶液，65 ℃温浴3 min，将离心管置于磁力架静置1 min，吸取溶液于洁净的1.5 mL离心管中，即得到样品DNA。可立即用于实验，也可保持于-20 ℃条件备用。  **6.2 DNA浓度和纯度测定**  通过反复实验，DNA质量对于芯片检测灵敏度非常关键，由于芯片法样本DNA模板加样体积受到一定的限制，一般较qPCR小，因此，更加注重提取样本DNA的浓度和纯度，否则会影响检测下限。本标准要求对核酸的质量进行实际控制，具体方法如下：  取1μL DNA溶液，使用核酸蛋白分析仪检测其浓度及质量，OD260/280值应在1.7～1.9之间，DNA浓度应＞10 ng/μL。  **6.3 恒温扩增**  本标准方法采用预混液+模板DNA形式，操作简单，但需要先在芯片的进油口加入白油，目的是作为芯片扩增反应预混液移动的介质，然后再加入预混液和模板，上机检测，仪器设置温度为63℃，反应时间45min。  具体操作如下：  （1）试剂配制  从-20 ℃±5 ℃取出试剂，将各试剂于室温下解冻，充分混匀并离心后备用。取出1.5 mL离心管，按照表2体系，每个样品吸取20 μL恒温荧光扩增预混液和5 μL DNA模板，漩涡振荡混匀并瞬时离心，总体积为25 μL。  （2）数字微流控芯片加样  用移液枪吸取550 μL白油，从数字微流控芯片的进油口缓慢加入，使整张芯片全部浸润白油为止，用移液枪吸取18 μL配制好的反应试剂从芯片的弧形进液口缓慢加入。本标准中选择加入18 μL的反应液，能保证6个孔位都能获得足够的反应溶液，保证检测效果；又能减少试剂的使用，节约检测成本。  （3） 上机测试  将加样后的芯片连同卡托一同放入检测设备中，反应温度和程序如表4：  表4 恒温扩增反应条件   |  |  |  | | --- | --- | --- | | 温度 | 反应时间 | 荧光采集 | | 63℃ | 45min | 每分钟采集1次 |   **6.4 结果判断**  阈值线设置是PCR反应结果的重要显示，在标准中数字微流控芯片检测仪器软件算法为10倍基线期荧光值的标准差（SD值），也可以手动设置为扩增曲线荧光强度的1/10，如本次扩增最高荧光强度为1000 RFU，则阈值线可手工调为100 RFU。特殊情况下，如检测结果出现荧光信号强度较低的非典型性扩增，则可根据实际情况，设定阈值线刚好超过非典型扩增的最高点。  （1）阈值线设置  一般情况仪器自动设定，也可手动设置为扩增曲线荧光强度的1/10，也可根据实际情况进行调整，设定原则以阈值线刚好超过非典型S型扩增的最高点。  （2）结果判定  任意一个反应孔或多个反应孔中荧光信号出现典型扩增曲线，且Tt值＜40，则该反应孔对应检测判断为阳性，即该样本中含有对应检测项目的核酸；未出现典型扩增曲线或Tt值＞40的反应孔判断为阴性，即该样本不含有对应检测项目的核酸。   1. **质量控制**   本标准方法通过设置空白对照、阴性对照和阳性对照进行反应的控制，具体判断如下：  空白对照：反应时间45min内，荧光信号未出现典型扩增曲线；  阴性对照：反应时间45min内，荧光信号未出现典型扩增曲线；  阳性对照：反应时间45min内，荧光信号出现典型扩增曲线，Tt值＜40。   1. **结果描述**   根据芯片反应的结果，具体报告如下：  结果为阴性，表述为“未检出××成分”；  结果为阳性，表述为“检出××成分”。   1. **防止污染措施**   本标准方法为核酸检测，实验室操作和废弃物处理应符合 GB/T 19495.2 《转基因产品检测 实验室技术要求》，应严格按照GB/T 27403《实验室质量控制规范 食品分子生物学检测》的规定操作，防止检验过程污染，造成假阳性情况。   1. **附录**   为了让标准使用者熟悉芯片技术原理和结构，更好的开展关键材料的验收，保证检验结果准确性，增加数字微流控芯片检测试剂体系及引物配制、微流控芯片结果及排布示意图和产品的制作与质量控制，具体如下：  **10.1数字微流控芯片检测试剂体系及引物配制（见4.2内容）**  **10.2 微流控芯片结构及排布示意图**  本标准采用芯片设计为12个反应孔位，可以开展12个不同的试验，本标准6种成分靶标，分别包埋在检测芯片4-9孔位，从左至右依次为：大豆、核桃、榛子、花生、杏仁、椰子，具体详见图3。  芯片2图3微流控芯片结构及排布示意图  **10.3 数字微流控芯片的制作**  采用微量点样仪，将各个引物均匀点布在数字微流控芯片的特定位置，每个反应孔添加引物工作液1μL，将加好引物工作液的芯片置于37℃恒温干燥箱干燥15min，确保干燥后封装芯片。  **10.4 数字微流控芯片质量控制**  数字微流控芯片金手指正常，无胶水粘附、条纹清晰、无变形及缺口；芯片内移液通道清晰，芯片玻璃表面无缺口和裂纹；数字微流控相片点样后无漏点，检测方法为封装后植物源性成分6项阳性质控样品和阴性质控样品恒温扩增，植物源性成分6项阳性质控样品荧光信号出现典型扩增曲线，对应的6个孔位均为阳性；阴性质控样品荧光信号未出现典型扩增曲线，对应的6个孔位均为阴性。   1. **主要试验（或验证）情况**   标准起草组对方法开展特异性、灵敏度、稳定性及实际样品的验证，采用25种常见物种（大豆、核桃、榛子、花生、杏仁、椰子、芝麻、绿豆、小米、燕麦、白眉豆、碧根果、巴旦木、夏威夷果、西瓜籽、板栗、赤小豆、薏米、无花果、红枣、玉米、松子、葵花籽、开心果、荞麦）进行特异性检测，大豆源性成分检测孔仅对大豆样品检出，核桃源性成分检测孔仅对核桃样品检出，杏仁源性成分检测孔仅对杏仁样品检出，椰子源性成分检测孔仅对椰子样品检出；对不同质量浓度的饮料进行灵敏度检测，多重微流控检测芯片中大豆、榛子、花生、杏仁、椰子饮料检测灵敏度为0.1%，核桃饮料检测灵敏度为0.05%；对36份植物蛋白饮料样品进行检测，同时以BJS2017《植物蛋白饮料中植物源性成分鉴定》进行平行检测，椰子源性成分则采用LAMP检测方法，验证6种植物源性成分检测芯片的实际样品检测结果与参考方法的符合性，与参考方法比较，植物蛋白饮料检测结果符合率100%（见图4，表5-8）。  图4 微流控芯片特异性验证图谱  表5 微流控芯片特异性检测结果   |  |  |  |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | | 样品 | 大豆源性成分检测孔 | 核桃源性成分检测孔 | 榛子源性成分检测孔 | 花生源性成分检测孔 | 杏仁源性成分检测孔 | 椰子源性成分检测孔 | | 大豆 | + | - | - | - | - | - | | 核桃 | - | + | - | - | - | - | | 榛子 | - | - | + | - | - | - | | 花生 | - | - | - | + | - | - | | 杏仁 | - | - | - | - | + | - | | 椰子 | - | - | - | - | - | + | | 芝麻 | - | - | - | - | - | - | | 绿豆 | - | - | - | - | - | - | | 小米 | - | - | - | - | - | - | | 燕麦 | - | - | - | - | - | - | | 白眉豆 | - | - | - | - | - | - | | 碧根果 | - | - | - | - | - | - | | 巴旦木 | - | - | - | - | - | - | | 夏威夷果 | - | - | - | - | - | - | | 西瓜籽 | - | - | - | - | - | - | | 玉米 | - | - | - | - | - | - | | 腰果 | - | - | - | - | - | - | | 红豆 | - | - | - | - | - | - | | 松子 | - | - | - | - | - | - | | 开心果 | - | - | - | - | - | - | | 赤小豆 | - | - | - | - | - | - | | 红香米 | - | - | - | - | - | - | | 黑香米 | - | - | - | - | - | - | | 薏米 | - | - | - | - | - | - | | 糯米 | - | - | - | - | - | - |   表6 微流控芯片灵敏度检测结果   |  |  |  |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | | 样品 | 大豆源性成分检测孔 | 核桃源性成分检测孔 | 榛子源性成分检测孔 | 花生源性成分检测孔 | 杏仁源性成分检测孔 | 椰子源性成分检测孔 | | 1%大豆饮料 | + | - | - | - | - | - | | 0.1%大豆饮料 | + | - | - | - | - | - | | 0.05%大豆饮料 | - | - | - | - | - | - | | 1%核桃饮料 | - | + | - | - | - | - | | 0.1%核桃饮料 | - | + | - | - | - | - | | 0.05%核桃饮料 | - | + | - | - | - | - | | 0.01%核桃饮料 | - | - | - | - | - | - | | 1%榛子饮料 | - | - | + | - | - | - | | 0.1%榛子饮料 | - | - | + | - | - | - | | 0.05%榛子饮料 | - | - | - | - | - | - | | 1%花生饮料 | - | - | - | + | - | - | | 0.1%花生饮料 | - | - | - | + | - | - | | 0.05%花生饮料 | - | - | - | - | - | - | | 1%杏仁饮料 | - | - | - | - | + | - | | 0.1%杏仁饮料 | - | - | - | - | + | - | | 0.05%杏仁饮料 | - | - | - | - | - | - | | 1%椰子饮料 | - | - | - | - | - | + | | 0.1%椰子饮料 | - | - | - | - | - | + | | 0.05%椰子饮料 | - | - | - | - | - | - |   表7 微流控芯片植物蛋白饮料样品检测结果   |  |  |  |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | | 样品名称 | 大豆源性成分检测孔 | 核桃源性成分检测孔 | 榛子源性成分检测孔 | 花生源性成分检测孔 | 杏仁源性成分检测孔 | 椰子源性成分检测孔 | | 豆奶1 | + | - | - | - | - | - | | 豆奶2 | + | - | - | - | - | - | | 豆奶3 | + | - | - | - | - | - | | 豆奶4 | + | - | - | - | - | - | | 豆浆 | + | - | - | - | - | - | | 自制大豆椰奶 | + | - | - | - | - | + | | 榛子乳1 | - | - | + | - | - | - | | 榛子乳2 | - | - | + | - | - | - | | 自制榛子乳 | - | - | + | - | - | - | | 大豆榛子乳1 | + | - | + | - | - | - | | 大豆榛子乳2 | + | - | + | - | - | - | | 核桃乳1 | - | + | - | - | - | - | | 核桃乳2 | - | + | - | - | - | - | | 自制核桃乳1 | - | + | - | - | - | - | | 自制核桃乳2 | - | + | - | - | - | - | | 核桃牛奶 | - | + | - | - | - | - | | 花生芝麻牛奶 | - | - | - | + | - | - | | 花生乳1 | - | - | - | + | - | - | | 花生乳2 | - | - | - | + | - | - | | 花生牛奶1 | - | - | - | + | - | - | | 花生牛奶2 | - | - | - | + | - | - | | 自制花生乳 | - | - | - | + | - | - | | 杏仁露1 | - | - | - | - | + | - | | 杏仁露2 | - | - | - | - | + | - | | 自制杏仁露1 | - | - | - | - | + | - | | 自制杏仁露2 | - | - | - | - | + | - | | 椰子汁1 | - | - | - | - | - | + | | 椰子汁2 | - | - | - | - | - | + | | 椰奶 | - | - | - | - | - | + | | 椰汁饮料 | - | - | - | - | - | + | | 椰子水饮料 | - | - | - | - | - | + | | 花生核桃乳 | - | + | - | + | - | - | | 自制大豆椰子乳 | + | - | - | - | - | + | | 自制花生、核桃、杏仁、榛子乳 | - | + | + | + | + | - | | 自制大豆、核桃、榛子、花生、椰汁饮料 | + | + | + | + | - | + | | 自制大豆、核桃、榛子、花生、杏仁、椰汁饮料 | + | + | + | + | + | + |   表8 植物蛋白饮料样品参考方法的检测结果   |  |  |  |  |  |  |  | | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | | 样品名称 | 大豆源性成分（qPCR） | 核桃源性成分（qPCR） | 榛子源性成分（qPCR） | 花生源性成分（qPCR） | 杏仁源性成分（qPCR） | 椰子源性成分（LAMP） | | 豆奶1 | + | - | - | - | - | - | | 豆奶2 | + | - | - | - | - | - | | 豆奶3 | + | - | - | - | - | - | | 豆奶4 | + | - | - | - | - | - | | 豆浆 | + | - | - | - | - | - | | 自制大豆椰奶 | + | - | - | - | - | + | | 榛子乳1 | - | - | + | - | - | - | | 榛子乳2 | - | - | + | - | - | - | | 自制榛子乳 | - | - | + | - | - | - | | 大豆榛子乳1 | + | - | + | - | - | - | | 大豆榛子乳2 | + | - | + | - | - | - | | 核桃乳1 | - | + | - | - | - | - | | 核桃乳2 | - | + | - | - | - | - | | 自制核桃乳1 | - | + | - | - | - | - | | 自制核桃乳2 | - | + | - | - | - | - | | 核桃牛奶 | - | + | - | - | - | - | | 花生芝麻牛奶 | - | - | - | + | - | - | | 花生乳1 | - | - | - | + | - | - | | 花生乳2 | - | - | - | + | - | - | | 花生牛奶1 | - | - | - | + | - | - | | 花生牛奶2 | - | - | - | + | - | - | | 自制花生乳 | - | - | - | + | - | - | | 杏仁露1 | - | - | - | - | + | - | | 杏仁露2 | - | - | - | - | + | - | | 自制杏仁露1 | - | - | - | - | + | - | | 自制杏仁露2 | - | - | - | - | + | - | | 椰子汁1 | - | - | - | - | - | + | | 椰子汁2 | - | - | - | - | - | + | | 椰奶 | - | - | - | - | - | + | | 椰汁饮料 | - | - | - | - | - | + | | 椰子水饮料 | - | - | - | - | - | + | | 花生核桃乳 | - | + | - | + | - | - | | 自制大豆椰子乳 | + | - | - | - | - | + | | 自制花生、核桃、杏仁、榛子乳 | - | + | + | + | + | - | | 自制大豆、核桃、榛子、花生、椰汁饮料 | + | + | + | + | - | + | | 自制大豆、核桃、榛子、花生、杏仁、椰汁饮料 | + | + | + | + | + | + |   同时，本标准方法由4家食品检验机构对微流控检测芯片进行特异性、灵敏度、稳定性及实际样品的验证，采用25种常见物种（大豆、核桃、榛子、花生、杏仁、椰子、芝麻、绿豆、小米、燕麦、白眉豆、碧根果、巴旦木、夏威夷果、西瓜籽、板栗、赤小豆、薏米、无花果、红枣、玉米、松子、葵花籽、开心果、荞麦）进行特异性检，证实本方法具有良好的特异性。对不同质量浓度的饮料进行灵敏度检测，证实微流控检测芯片中大豆、榛子、花生、杏仁、椰子饮料检测灵敏度为0.1%（g/100 mL），核桃饮料检测灵敏度为0.05%（g/100 mL）。共对56批植物蛋白饮料样品进行检测，同时以BJS2017《植物蛋白饮料中植物源性成分鉴定》进行平行检测，椰子源性成分则采用LAMP检测方法，验证6种植物源性成分检测芯片的实际样品检测结果与参考方法的符合性，结果证实100%符合。   1. **征求意见处理结果**   标准起草工作组对标准文本和编制说明的征求意见稿进行充分交流，重点针对主要技术内容、指标设置、操作流程、图表内容、文字描述、格式进行充分讨论，基本采纳相关意见，在此基础上，完善标准文本，形成了标准征求意见稿。   1. **标准实施建议**   建议本标准批准发布 6 个月后实施。   1. **其他需要说明的问题**   无。 |