青海省冬虫夏草协会 发布

2025年9月1日 实施

2025年7月26日 发布

野生冬虫夏草和人工虫草鉴别技术规程

T/QCSA 9-2025

T/QCSA

团体标准

ICS 11.120.10

CCS C 23

目 次

[前 言 II](#_Toc24592)

[1 范围 1](#_Toc5196)

[2 规范性引用文件 1](#_Toc24095)

[3 术语和定义 1](#_Toc4483)

[4 鉴别流程 1](#_Toc14191)

[5 鉴别方法 2](#_Toc27983)

[6 结果判定 2](#_Toc23795)

[7 注意事项 4](#_Toc431)

[附录A 6](#_Toc566)

[附录B 9](#_Toc5980)

前 言

本文件按照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》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由青海省冬虫夏草协会归口。

本文件起草单位：青海省畜牧兽医科学院、青海省冬虫夏草协会、玉树藏族自治州三江源冬虫夏草科技股份有限公司、浙江国坤堂健康控股集团有限公司、青海御品商贸有限公司、青海保惠堂生物科技有限公司、玉树市雪域藏宝堂、玉树州冬虫夏草协会、玉树州江之源冬虫夏草专业合作社、弥燕滋补馆、青海新泰行土特产销售有限公司、青海新泰行生物科技有限公司、广东省贡草生物科技有限公司、西宁藏仁堂商贸有限公司

本文件主要起草人: 李秀璋、李玉玲、师茜、唐楚煜、扎西才吉、姚孝宝、吕焕志、林玉波、刘二鹏、贾立颖、祁星民、畅喜云、王昆、王瑞、王国珍、刘俊庆、马燕、安积芳、刘蓉蓉、拉丁、朱锦毅、王东、张琰、章燕娜、朱桃、梁中孝

野生冬虫夏草和人工虫草鉴别技术规程

* 1. 范围

本文件规定了野生冬虫夏草和人工虫草的术语和定义、鉴别流程、鉴别方法、结果判定及注意事项。

本文件适用于青海省冬虫夏草产区内的野生冬虫夏草及市场流通的人工冬虫夏草。

* 1. 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

DB63/T 890 地理标志产品 青海冬虫夏草

T/QCSA 5 青海天然冬虫夏草保存技术规程

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

野生冬虫夏草

野生冬虫夏草是指在野外环境下，冬虫夏草菌（*Cordyceps sinensis* ( BerK.) Sacc.）侵染蝙蝠蛾科昆虫幼虫而形成的幼虫尸体与真菌子座形成的虫菌复合体。

人工虫草

人工虫草是指在人为控制的环境条件下，规模化饲养冬虫夏草寄主蝙蝠蛾昆虫（其中1种），通过人工的方法使冬虫夏草菌感染人工饲养的寄主蝙蝠蛾幼虫，再将感菌幼虫在低海拔室内模拟高原环境条件培育或在高海拔冬虫夏草适生地培育，长出子座形成的虫菌复合体。

* 1. 鉴别流程

样品采集

从市场、产地等不同渠道随机抽取待鉴定冬虫夏草样本，确保样本具有代表性。采集过程中注意避免样本污染、损坏，做好标记记录。

初步筛查

检验人员依据感官鉴别法，对冬虫夏草样本之间的差异进行快速检查，初步判断样本是否存在明显的人工冬虫夏草特征，对于疑似及难以判断的样本进入下一步检测。

分子生物学鉴定

通过 DNA 层面对冬虫夏草样本寄主蝠蛾种类进行精准鉴别。

理化指标测定

对冬虫夏草样本中砷、微量元素及稳定同位素、氨基酸类成分、蛋白质含量等进行测定。

* 1. 鉴别方法

初步筛选。

5.1.1 视觉：将虫草置于自然光下，仔细观察虫体与草头的形态、颜色、纹理。对比野生冬虫夏草与人工虫草的典型外观差异，如上述提及的虫体饱满度、环纹清晰度、草头特征等。

5.1.2 触觉：用手轻轻触摸冬虫夏草，感受虫体的硬度、弹性以及草头的柔韧程度。野生冬虫夏草虫体硬实且有一定弹性，草头柔韧；人工虫草虫体可能偏软（加工过后的则趋于硬实，无弹性），草头易断手感较明显。

5.1.3 嗅觉：嗅闻虫草气味，野生冬虫夏草有特殊的腥香气味，且气味浓郁持久；人工虫草气味较淡，有时伴有轻微的异味，类似发酵气味。

分子生物学鉴别。

见附录A。

理化鉴别。

见附录B。

* 1. 结果判定

初步筛查。

见表1。

**表1 野生冬虫夏草与人工虫草差异**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 类别 | 野生冬虫夏草 | 人工虫草 |
| 产地 | 高寒草甸 | 室内 |
| 采集时间 | 每年5-6月仅40天左右 | 全年室内 |
| 重量 | 单体密度重量相对较重 | 单体密度重量相对轻 |
| 子座 | 头部无明显变细变尖 | 头部通体流畅，无渐变色 |
| 虫与草接洽的部位形状 | 饱满 | 有凹陷 |
| 虫体眼睛 | 眼睛被土壤包裹、棕色、未下垂 | 眼睛未被土壤包裹、红色、下垂 |
| 颈部 | 颈部未变细弯曲 | 颈部突然变细弯曲 |
| 背纹 | 三宽一窄背纹明显 | 背纹不明显或杂乱 |
| 腹足 | 中间4对凸出 | 中间4对不明显 |
| 虫体颜色 | 通体土黄色或黄棕色、颜色分布均匀 | 颜色分布不均匀 |
| 消化腺 | 清晰 | 不清晰或无 |
| 饱满度 | 整体圆润饱满腹部相对凸出 | 整体不够饱满腹部无明显凸出 |
| 气味 | 浓郁 | 几乎无味 |



分子生物学鉴别。

见表2。

**表2 野生冬虫夏草与人工虫草寄主差异**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 类别 | 野生冬虫夏草 | 人工虫草 |
| 寄主 | 其它蝠蛾 | 小金蝠蛾 |

理化指标。

* + - 1. 砷的含量

见表3。

**表3 野生冬虫夏草与人工虫草砷的差异**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 类别 | 野生冬虫夏草 | 人工冬虫夏草 |
| 无机砷与总砷比例 | 约＜ 10 % | 约＞ 30 % |

* + - 1. 微量元素及稳定同位素

见表4。

**表4 野生冬虫夏草与人工虫草中元素和稳定同位素的差异**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 元素（单位） | | 野生冬虫夏草 | 人工冬虫夏草 |
| 微量元素 | Na（ppm） | 735.0928~1238.8873 | 1818.7491~2305.5494 |
| Al（ppb） | 214158.7545~784715.3165 | 889290.7118~904577.4969 |
| P（ppm） | 3043.5253~3538.2176 | 6001.0128~6722.7212 |
| K（ppm） | 5317.229~6401.6349 | 8188.2929~8423.7271 |
| Cd（ppb） | 61.31170~75.3648 | 322.8841~329.8326 |
| Au（ppb） | 0.5541~3.3262 | 4.61212~8.9364 |
| U（ppb） | 21.2206~54.5581 | 83.3847~90.7867 |
| 稳定同位素 | δ18O（‰） | 33.64~38.27 | 31.48~31.64 |
| δ13C（‰） | 26.8~27.80 | 27.9~28.60 |
| δ15N（‰） | 0.1~0.50 | 0.8~1.20 |

* + - 1. 氨基酸及蛋白质

见表5。

**表5 野生冬虫夏草与人工虫草有效成份差异**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 类别 | 野生冬虫夏草 | 人工冬虫夏草 |
| 必需氨基酸总量占氨基酸总量 | 40.97 % | 37.55% |
| 虫体的必需氨基酸质量分数 | 42.72 % | 37.52 % |
| 子座的必需氨基酸质量分数 | 39.22 % | 37.57 % |
| 蛋白质含量 | 0.65% | 0.57% |
| 冬虫夏草子座蛋白质含量 | 0.89% | 0.54% |
| 差异蛋白多分布的范围 | 15KD-75KD | 15KD-30KD |
| 蛋白质斑点数 | 550 | 364 |
| 子座蛋白质斑点数 | 535 | 300 |

* 1. 注意事项

7.1 鉴别人员应经过专业培训，熟悉冬虫夏草生物学特性、鉴别技术原理及操作流程，具备丰富实践经验，确保鉴别结果可靠性。

7.2 所使用的仪器设备、试剂耗材应定期校准、维护，保证检测数据精准度。

7.3 鉴别过程严格遵循实验室规范，防止交叉污染，妥善保存样本及检测记录，以便追溯复查。

附录A

（规范性附录）

分子生物学鉴别法

**1.普通PCR检测法**

（1）DNA 提取：选取冬虫夏草样本（虫体部分），采用改进CTAB法对冬虫夏草样本（虫体部分）的总DNA进行提取。称取冬虫夏草样品的虫体部分(取完子座剩余部分)的头部30mg放入研钵，加入适量液氮后研磨成均匀粉末。将研磨好的样品转移至2ml的已灭菌的离心管中，加入700 μL 65℃预热的2×CTAB和2μL的β-巯基乙醇，混匀。将离心管放入恒温水浴锅中65℃保温80min,其间每隔10min摇匀一次。从水浴锅中取出离心管，向离心管中加入150μL的5mol/L的预冷的醋酸钾，在4℃冰箱内静置15min，取出离心管，再向内加入700μl氯仿:异戊醇(24:1),上下颠倒混匀后置于摇床摇20min,充分摇匀后12000rpm离心 10 min，将上清液转入新管中。向新管中加入与上清液等体积的氯仿:异戊醇(24:1)，重复抽提，置于摇床摇20min，充分摇匀后12000 rpm 离心10min，再将上清液转入新管。在取得的上清液中加入其2/3 体积的-20℃预冷的异丙醇，轻轻颠倒数次混匀，-20℃冰箱沉淀1h。沉淀完全后，10000 rpm离心10min，弃掉上清液。向离心管内加入500μL的70%的乙醇洗涤沉淀，10000rpm离心5 min,重复2次。室温风干沉淀，每管加入100μL的1XTE缓冲液溶解沉淀。取5μL于1%的琼脂糖凝胶电泳上进行检测，其余的-20℃储存。

PCR 扩增：针对冬虫夏草寄主蝠蛾特异性基因片段COI、COII和Cytb进行 PCR 扩增反应。

冬虫夏草寄主昆虫的COI和COII基因片段的PCR扩增反应程序:

94℃预变性1min;94℃变性1min，45℃复性1.5min，72℃延伸 1.25 min，6个循环;94℃变性1min，51℃复性1.5 min，72℃延伸1.25 min，36个循环;2℃延伸5 min，最后4℃保存。

冬虫夏草寄主昆虫的Cytb基因片段的PCR扩增反应程序:

94℃预变性5 min;94℃变性45 sec，46℃复性1min，72℃延伸1min，40个循环;72℃延伸10min，最后4℃保存。

**表1 冬虫夏草寄主昆虫的3个目标基因片段所用引物序列**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Gene | Primer  name | F/R | Sequence (5’-3’) |
| COI | Lco1490 | F | GGTCAACAAATCATAAAGATATTG |
|  | Hco2198 | R | TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAAT |
| COII | COII-2 | F | CTAATATGGCAGATTATATGTATTGGA |
|  | COII-3 | R | GCTCCACAAATTTCTGAGCA |
| Cytb | CB1 | F | TATGTACTACCATGAGGACAAATATC |
|  | CB2 | R | ATTACACCTCCTAATTTATTAGGAAT |

**表2 反应体系**

|  |  |
| --- | --- |
| Total volume | 50.0 (μL) |
| COI | Lco1490 |
| 10x Buffer (Mg2+free) | 5 |
| dNTPs (10 mmo/L) | 1.25 |
| MgCl2(25 mmol/L) | 4 |
| 引物1(10 μmo/L) | 2.5 |
| 引物2(10 μmol/L) | 2.5 |
| Ex TaqDNA 聚合酶(5 U/μL) | 0.5 |
| 模板(20 ng/μL) | 2.5 |
| ddH20 | 31.75 |

电泳分析：扩增结束后，将PCR产物用1.5%的琼脂糖凝胶电泳进行检测，并用紫外凝胶成像系统拍照。将扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳，观察条带情况，切胶回收扩增条带送样测序，将测序得到的序列上传至NCBI进行Blast对比分析，明确寄主蝠蛾种类。

**2.实时荧光PCR检测法**

（1）设计引物和探针

根据小金蝠蛾线粒体DNA中部分基因的序列设计如下引物XJF2 /XJR1和探针PC-MGB2，引物序列如表3。

**表3 引物信息表**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Oligo Name | Sequences (5’to 3’) | Length | Purification | Modification |
| XJF2 | TTC CAT AGA CTA TCC CCC | 21 | HPLC |  |
| XJR2 | GAT GGG CTC ATG TAA CAG TAA TTC C | 25 | HPLC |  |
| PC-MGB2 | TGA AAT TGG TAT AAT ATG GCC ACC | 24 | HPLC | 5’6-FAM,  3’MGB |

（2）小金蝠蛾DNA的提取

选取冬虫夏草样本（虫体部分），采用改进CTAB法对冬虫夏草样本（虫体部分）的总DNA进行提取。称取冬虫夏草样品的虫体部分(取完子座剩余部分)的头部30mg放入研钵，加入适量液氮后研磨成均匀粉末。将研磨好的样品转移至2ml的已灭菌的离心管中，加入700 μL 65℃预热的2×CTAB和2μL的β-巯基乙醇，混匀。将离心管放入恒温水浴锅中65℃保温80min,其间每隔10min摇匀一次。从水浴锅中取出离心管，向离心管中加入150μL的5mol/L的预冷的醋酸钾，在4℃冰箱内静置15min，取出离心管，再向内加入700μl氯仿:异戊醇(24:1),上下颠倒混匀后置于摇床摇20min,充分摇匀后12000rpm离心 10 min，将上清液转入新管中。向新管中加入与上清液等体积的氯仿:异戊醇(24:1)，重复抽提，置于摇床摇20min，充分摇匀后12000 rpm 离心10min，再将上清液转入新管。在取得的上清液中加入其2/3 体积的-20℃预冷的异丙醇，轻轻颠倒数次混匀，-20℃冰箱沉淀1h。沉淀完全后，10000 rpm离心10min，弃掉上清液。向离心管内加入500μL的70%的乙醇洗涤沉淀，10000rpm离心5 min,重复2次。室温风干沉淀，每管加入100μL的1XTE缓冲液溶解沉淀。取5μL于1%的琼脂糖凝胶电泳上进行检测，其余的-20℃储存。

（3）实时荧光PCR检测

实时荧光定量PCR体系见表4。

**表4 实时荧光定量PCR体系**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Component | 20 µL System | Final concentration |
| 2× FastFire qPCR PreMix | 10 µL | 1× |
| Forward primer | 0.6 µL | 300 nM |
| Reverse primer | 0.6 µL | 300 nM |
| Probe | 0.4 µL | 200 nM |
| DNA Template | 1 µL | ≤200 ng |
| RNase-Free ddH2O | 7.4 µL | - |

实时荧光定量PCR程序见表5。

**表5 实时荧光定量PCR程序**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Step | Cycles | Temperature / ℃ | Time / s | Signal collection or not |
| Pre degeneration | 1× | 98 | 60 | NO |
| Degeneration | 40× | 98 | 5 | NO |
| Annealing | 60 | 10 | NO |
| Extension | 72 | 15 | YES |

附录B

（规范性附录）

理化鉴别

1.砷的检测

(1)样品准备

将样品粉碎过孔径为0.25mm的筛，并在4℃下保存备用。

(2)不同砷形态标准溶液的配制及标准曲线绘制

准确称取五种形态的砷标准溶液(砷酸根、亚砷酸根、一甲基砷、二甲基砷、砷甜菜碱)适量于标准溶液瓶中，配制成五种形态的砷混合标准溶液使用液浓度为1.0mg/L(mg/kg)。吸取适量砷混合标准使用液适量，用0.15mol/L硝酸溶液逐级稀释配制成以下标准系列：五种形态的砷标准溶液浓度为0.00、2.50、5.00、10.0、50.0、100μg/L。以保留时间定性，峰高峰面积定量。

(3)样品消解与总砷的测定

每个样品称取平行样1.0g左右(精确至1mg)于50mL离心管中，加0.15mol/L硝酸20mL，放置过夜。于90℃恒温烘箱中热浸提2.5h，每0.5h振摇1min。提取完毕取出冷却至室温，8000r/min离心15min。

上清液首先用水稀释至25mL，然后进行ICP-MS检测。设备运行参数如下：射频功率1550W；载气1.05L/min；碰撞模式：HE流量4.2mL/min；等离子体气体流量＝15L/min；辅助气体流量＝0.1L/min；并选择同位素m/z＝75。使用As(V)标准品的外标法校准曲线对样品进行定量。对每个样品进行三次平行分析。为了控制质量，在每个样品系列检测之前和之后，都以用于制定标准曲线的标准运行，并测量相应的消化空白(每个样品消化系列各一个)。

(4)HPLC-ICP-MS分析砷形态

采用HPLC-ICP-MS分析方法进行As形态的分离和测定。通过Agilent1260HPLC系统(Agilent，USA)分离五种As形态(AsⅢ，AsⅤ，MMA，DMA，AsB)。色谱仪配有标准自动进样器，IonPac AG19保护柱(4×50mm)和IonPacAS19分离柱(4×250mm)。用于HPLC的主要色谱条件如下：动相为10mmol/L无水乙酸钠、3mmol/L硝酸钾、10mmol/L磷酸二氢钠、0.2mmol/L乙二胺四乙酸二钠的缓冲液，氨水调节pH为10；流动相流速为1.0mL/min；采用ICP-MS(如前所述)检测As形态，并与标准物的保留时间进行比较判定。采用外标准曲线（使用的浓度为0、2.5、5、10、50和100ppb）根据相应的标准对MMA，DMA，AsⅢ，AsV和AsB进行定量，每个样品进行三次平行分析，对每个步骤进行空白试验。

2.微量元素及稳定同位素的检测

（1）微量元素含量的测定。称取0.2g左右的冬虫夏草研磨之后的样品，置于洁净的消解管中，加入6mL BV3级浓硝酸预消解1h，之后加入2mL BV3级双氧水预消解0.5h.放入微波消解仪中进行消解。微波消解条件：微波在8min内从0℃增加至120℃，在此条件下保持2min；5min内从120℃增加至160℃，在此条件下保持5min；5min内从160℃增加至180℃，在此条件下保持15min。消解后用超纯水定容至100mL。将定容好的样品用ICP-MS进行检测。ICP-MS自动进样器参数：样品快速提升2mL/min(0.5rps)40秒；分析前稳定 0.4rps30秒；多元素同时分析0.1rps。ICP-MS 定量分析模式：He气模式，单位质量数采集数采集点数为3，数据采集重复次数为3次，积分时间As为lsec，Se、Cd 为2sec，Pb为3sec，其他元素为0.3sec。ICP-MS 具体工作参数:射频功率为1600W，载气流速为1.0L/min，蠕动泵流速 0.1rps，雾化室温度为2℃，氧化物指标为0.45%，双电荷指标为1.01%。使用外标法进行定量。采用Ge、In、Bi等多元素混合作为内标，其中Ge(72)作为质量数9-89各元素内标；In(115)作为质量数95-159各元素内标；Bi(209)作为质量数163-238各元素内标。当内标元素RSD值大于3%时，样品需重新测定。

（2）稳定同位素含量的测定。样品检测：采用稳定同位素质谱仪方法结合元素分析仪对冬虫夏草研磨后的粉末样品进行C、H、O、N稳定同位素分析。对于检测δ13C、δ15N，称取1mg冬虫夏草粉末样品，包装进锡杯，在C/N模式下，样品经过自动进样器进入元素分析，样品中的C、N经过960℃高温燃烧转化成CO2和N2，并经过气相色谱柱，最后注入同位素比率质谱仪中进行测定。对于检测18O、2H，称取1mg冬虫夏草粉末，置于银杯，在H/O模式下，样品经过自动进样器进入元素分析，样品中的H、O经过1400℃高温裂解转化成H、CO，并经过气相色谱柱，最后注入同位素比率质谱仪中进行测定。检测参数：C、N元素分析仪条件设置燃烧温度为60℃，还原温度为600℃。以氦气作为载气，流量为100 mL/min，高纯度CO2、H2、N2为参考气体，纯度均大于99.99%。H、O元素分析仪条件设置裂解炉温度1400℃，以氦气作为载气，流量为100mL/min。高纯度H和CO为参考气体，纯度均大于99.99%。

稳定同位素值按下式计算:

δ/‰=（R样品/R标准-1）×1000

式中:R样品为测样中重同位素和轻同位素丰度比，分别为2H/1H、13C/12C、15N/14N、18O/16O。

3.有效成分的检测

（1）氨基酸含量采用氨基酸自动分析仪进行检测，通过离子交换色谱分离氨基酸，经茚三酮柱后衍生显色，定量各氨基酸含量。样品前处理：取冬虫夏草粉末0.5 g，加入10 mL 6 mol/L盐酸，充氮除氧后封管，110℃水解24小时。水解液过滤，蒸干后用0.02 mol/L盐酸溶解，过0.22 μm滤膜。色谱条件：色谱柱：磺酸型强阳离子交换树脂柱（如L-8900氨基酸分析仪专用柱）。流动相：pH梯度缓冲液（柠檬酸钠-柠檬酸体系）。检测波长：570 nm（脯氨酸检测波长440 nm）。定量分析：外标法或内标法（如正亮氨酸）定量总氨基酸及17种组分（天冬氨酸、谷氨酸等）。

（2）蛋白含量的测定采用凯氏定氮法结合bradford 法进行检测，总蛋白含量测定采用凯氏定氮法测定，可溶性蛋白采用bradford 法进行检测。

凯氏定氮法（总蛋白参考法）。样品前处理，干燥与粉碎：冬虫夏草样品60℃烘干至恒重，粉碎过80目筛。称样：准确称取0.5~1.0g样品（精确至0.0001 g）于凯氏烧瓶中。消化，加催化剂：向烧瓶中加入5g K2-CuSO4混合物。加酸，样品与浓硫酸共热，氮转化为硫酸铵。加热消化：初始低温（200℃）加热至泡沫消失。升温至380~420℃，持续消化至溶液澄清（约24小时）。冷却后备用。蒸馏与吸收，装样：将消化液转移至蒸馏装置，用30 mL蒸馏水冲洗烧瓶。加碱：向蒸馏室中缓慢加入40 mL 40% NaOH溶液（产生强碱性环境）。蒸馏：加热蒸馏，用盛有20 mL 2%硼酸溶液（含5滴混合指示剂）的锥形瓶接收馏出液，直至馏出液达150 mL（约10分钟）。指示剂变色：硼酸吸收液由紫红色变为蓝绿色。滴定：盐酸滴定计算总氮量，公式：粗蛋白含量（%）= (V×C×14×6.25)/m ×100% （V：滴定体积，C：盐酸浓度，m：样品质量）。空白试验，以0.5 g蔗糖代替样品，同法操作，记录空白消耗盐酸体积（V0，mL）。

可溶性蛋白提取方法取冬虫夏草粉末1g，加入液氮适量,加入0.02 mol·LPBS缓冲液(pH 7.2)40mL，冰浴研磨30min至糊状，4℃浸提过夜。取出离心30min，刮掉漂浮油脂层,得透明上清液,待进一步含量测定及电泳分析。采用bradford 法测定可溶性蛋白含量。Bradford法（考马斯亮蓝法）：冬虫夏草粉末（0.5 g）用预冷磷酸盐缓冲液（PBS, pH 7.4）冰浴研磨，4℃离心（12,000 rpm, 20 min），取上清液。必要时用丙酮脱脂或活性炭脱色。显色反应：取50 μL上清液，加入5 mL Bradford工作液，混匀后静置5 min。检测：在595 nm波长下测定吸光度，以牛血清白蛋白（BSA）绘制标准曲线（0.1-1.0 mg/mL）。可溶性蛋白质SDS-PAGE分析选取各产地样品各3份进行SDS-PAGE电泳进行测定,分析样品中可溶性蛋白质相对分子质量范围。可溶性蛋白质双向电泳(2-DE)分析选取检测样品进行2-DE测定,分析其中可溶性蛋白质多样性,采用相关软件分析蛋白斑点数量及pH分布范围。