DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250928002
引用格式: 智军海, 孟超, 周嘉明, 等. 胶体金免疫层析法快速检测金银花中的马拉硫磷[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(1): 53–60.
ZHI JH, MENG C, ZHOU JM, *et al*. Rapid determination of malathion in *Lonicera japonica* by colloidal gold immunochromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(1): 53–60. (in Chinese with English abstract).

胶体金免疫层析法快速检测金银花中的马拉硫磷

智军海[1], 孟　超[2], 周嘉明[2], 石卓蓉[3], 张庆伟[3*]

(1. 天津华测检测认证有限公司, 天津　300300; 2. 青岛华测检测技术有限公司, 青岛　266000;
3. 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 西南大学生命科学学院, 重庆　400715)

摘　要: 目的　建立了一种通过胶体金免疫层析技术快速测定金银花中马拉硫磷药物残留的方法。**方法**　金银花中残留的马拉硫磷可与胶体金标记的单克隆抗体结合, 抑制抗体和硝酸纤维素膜(T 线)上的抗原结合, 从而引起 T 线颜色变化。本研究比较分析了不同 pH、抗体添加量、抗原包被量、冻干保护剂种类、Tween 20 添加量等因素对检测结果的影响。**结果**　通过研究发现马拉硫磷单克隆抗体(malathion monoclonal antibody, mAb)和羊抗鼠免疫球蛋白(goat anti-mouse immunoglobulin, IgG)金标抗体制备的最适 pH 为 9.0, Tween 20 为最适宜添加量为 50 μL, 金标抗体的最适宜冻干保护剂为 1.0 g 蔗糖+0.5 g 牛血清白蛋白+0.5 g 甘露醇, 优化后的方法对于银花中的马拉硫磷的检出限为 50 μg/kg, 同时该方法对于马拉硫磷有很好的特异性(200~1000 μg/kg 的水胺硫磷、丙溴磷、甲拌磷和倍硫磷均不能产生反应), 使用阴性样品和阳性样品进行方法验证发现该方法假阳性率为 1.0%, 假阴性率为 0.5%, 做到了现有标准方法的检测结果一致。根据该方法制作的检测卡在室温、密封、干燥环境条件下可以保存 1 年。**结论**　本研究所建立的方法操作简便, 特异性强, 灵敏度和准确度高, 检测时间短且稳定性好, 可用于金银花大量样品的马拉硫磷残留的快速检测。

关键词: 马拉硫磷; 金银花; 胶体金免疫层析法

Rapid determination of malathion in *Lonicera japonica* by colloidal gold immunochromatography

ZHI Jun-Hai[1], MENG Chao[2], ZHOU Jia-Ming[2], SHI Zhuo-Rong[3], ZHANG Qing-Wei[3*]

(1. *Tianjin Huace Testing and Certification Co*., *Ltd*., *Tianjin* 300300, *China*; 2. Qingdao *Huace Testing and Certification Co*., *Ltd*., *Qingdao* 266000, *China*; 3. *Key Laboratory of Eco-environments in Three Gorges Reservoir Region*, *Ministry of Education*, *School of Life Sciences*, *Southwest University*, *Chongqing* 400715, *China*)

ABSTRACT: Objective　To establish a method for the rapid determination of malathion drug residues in *Lonicera japonica* by colloidal gold immunochromatography. **Methods**　The residual malathion in honeysuckle can bind to the colloidal gold-labeled monoclonal antibody, inhibiting the binding of the antibody to the antigen on the nitrocellulose membrane (T line) and resulting in a color change on the T line, this study analyzed the effects of

收稿日期: 2025-09-28
基金项目: 中央高校基本科研业务费资助项目(SWUKT22045); 重庆市南川区科技计划项目(Nckjcx20250101)
第一作者: 智军海(1984—), 男, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为农产品与食品质量检测。E-mail: zhijunhai@cti-cert.com
***通信作者:** 张庆伟(1986—), 男, 博士, 副教授, 主要研究方向为中药材资源挖掘与品质分析。E-mail: qwzhang18@swu.edu.cn

various factors, such as pH, antibody addition amount, antigen coating amount, type of freeze-drying protective agent, and Tween 20 addition amount on the test results. **Results** The optimal conditions determined were as follows: The optimal pH for preparing the malathion monoclonal antibody (mAb) and goat anti-mouse immunoglobulin (lgG) gold-labeled antibody was 9.0; the optimal amount of Tween 20 added was 50 μL; and the optimal lyophilization protectant for the gold-labeled antibody was a mixture of 1.0 g sucrose, 0.5 g bovine serum albumin and 0.5 g mannitol. The optimized method achieved a limit of detection was 50 μg/kg for malathion in *Lonicera japonica*. Furthermore, the method exhibited high specificity for malathion; no cross-reactivity was observed with isocarbophos, profenofos, phoxim or fenthion at concentrations ranging from 200 to 1000 μg/kg. Method validation using negative and positive samples showed a false-positive rate of 1% and a false-negative rate of 0.5%, achieving consistency with the results from existing standard methods. The test strips produced based on this method could be stored for one year at room temperature under sealed and dry conditions. **Conclusion** The method established in this study is simple to operate, highly specific, sensitive and accurate. It requires a short detection time and demonstrates good stability, making it suitable for the rapid screening of malathion residues in large batches of *Lonicera japonica* samples.

KEY WORDS: malathion; *Lonicera japonica*; colloidal gold immunochromatography

0 引 言

金银花(*Lonicera japonica*)作为传统药食同源类药材, 具有清热解毒、疏散风热等多种功效[1], 广泛应用于感冒、咽喉痛、热毒血痢等症状的治疗[2]。在金银花的种植过程中, 农药的不合理使用导致农药残留的问题非常严重[3]。相关统计数据显示马拉硫磷是金银花中检出率较高的有机磷农药[4]。马拉硫磷是一种广谱有机磷杀虫剂, 其因高效、低毒和易降解等特点, 被广泛应用于农作物和中药材的种植[5]。摄入含有马拉硫磷的食品或中药材, 会对人体造成潜在健康危害, 如引起神经系统、内分泌系统和免疫系统的功能紊乱[6]。因此, 加强对金银花等中药材中马拉硫磷残留的检测, 是保障其药材质量和安全的重要环节。

目前, 马拉硫磷残留的检测方法主要有气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)[6]、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)[7]、液相色谱-质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS)[8]等。根据 GB 23200.10—2016《食品安全国家标准 桑枝、金银花、枸杞子和荷叶中 488 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法》, 金银花中马拉硫磷的定量限为 0.1000 mg/kg。相关的研究表明在合适条件下上述方法都能满足检测要求[9−11], 但是这些方法皆操作复杂、检测时间长、仪器设备昂贵、对技术人员的要求较高, 而且无法实现现场快速检测和大规模筛查。因此, 建立一种快速、准确、灵敏的方法用于检测金银花中马拉硫磷残留量是一项亟待开展的研究工作。

胶体金免疫层析技术(colloidal gold immunochromatographic assay, GICA)作为一种新兴的免疫标记技术, 因其快速、简便、直观和低成本等优点, 在农药残留检测领域获得广泛的应用[12−16]。通过将特异性抗体与胶体金颗粒结合, 制备成胶体金标记抗体, 再利用层析技术, 可以实现对目标农药化合物的快速检测[17]。该方法不仅灵敏度高、特异性强, 而且操作简便、检测成本低, 非常适合于现场检测和大规模的筛查[18]。相关研究表明: 针对蔬菜水果中有机磷农药残留, GICA 对大部分农药的检出限低于或等于国家标准规定, 表现出较高的灵敏度[19−23]。目前利用 GICA 快速检测金银花中马拉硫磷残留的方法尚未建立。该项工作不仅有利于中药材金银花的质量监督, 对于推动金银花的标准化种植和加工也有重要作用。

本研究建立了一种基于 GICA 的金银花中马拉硫磷残留的检测方法。通过优化马拉硫磷抗体的标记量与固定方法以及试纸条的层析条件, 实现了金银花中马拉硫磷残留的快速检测, 其实际使用结果与标准方法一致, 能够满足中药材中马拉硫磷检出限的要求(50 μg/kg)。为金银花的安全生产和质量控制提供了有力支持。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

金银花样品来自天津市中药材市场。

马拉硫磷、水胺硫磷、丙溴磷、甲拌磷、倍硫磷标准品(纯度≥99%, 德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司); 牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)(纯度≥98%, 美国 Sigma 公司); 马拉硫磷抗原、马拉硫磷单克隆抗体(malathion monoclonal antibody, mAb)、羊抗鼠免疫球蛋白(goat anti-mouse immunoglobulin, IgG)(无锡迪腾敏生物科技有限公司); 碳酸钾、氢氧化钠、海藻糖、蔗糖、浓 HCl(质

量分数约为 37%)、氯金酸、Tween-20(分析纯)(阿拉丁生化科技股份有限公司)；硝酸纤维素膜(CN140，德国 Sartorius 公司)；吸水垫、样品垫、PVC 底板(上海捷一生物科技有限公司)；胶体金重悬液(天津华测检测认证有限公司实验室)；实验用水均为超纯水。

1.2　仪器与设备

赛多利斯 BSA224S 电子分析天平(精度 220 g/0.0001 g)、HM3035 XYZ 三维划膜喷金仪、CTS300 数控裁条机、ZQ2002 微电脑斩切机(上海金标生物科技有限公司)；TG16-WS 台式高速离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司)；250 度台式鼓风干燥箱(上海合恒仪器设备有限公司)；TD4K-Z 离心机(长沙东旺实验仪器有限公司)；BILON-1000FD 真空冷冻干燥机(上海比朗仪器制造有限公司)；UV-8000S 紫外可见分光光度计(上海元析仪器有限公司)；HITACHI HT7700 透射电镜(飞纳科技公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　胶体金溶液制备

准确移取 3 mL 1% (*m*:*V*)氯金酸溶液于 900 mL 超纯水中，100 ℃加热至沸腾，再加入 9 mL 1% (*m*:*V*)柠檬酸钠溶液[11]，混匀，待溶液颜色变成酒红色且保持不变时，保持沸腾 15 min，静置冷却至室温，然后将胶体金溶液用超纯水定容至 900 mL，4 ℃避光保存。

1.3.2　胶体金质量鉴定

肉眼观察法：将胶体金溶液放置在透明的容器内，通过裸眼观察胶体金溶液的色泽、沉淀情况，以确定制备的胶体金质量。

透射电镜法：将 20 μL 胶体金溶液滴在超薄碳膜的铜网上，在 37 ℃孵育 10 min 后，用滤纸吸去残留液，在室温进行干燥，并通过透射电镜观察胶体金颗粒粒径大小和均一性，颗粒的团聚现象，进一步确定胶体金的质量。

1.3.3　胶体金标抗体制备与质量鉴定

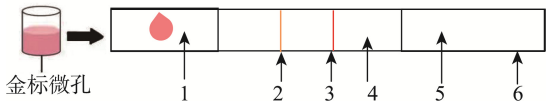
胶体金标抗体制备[11]：分别移取 1 mL 胶体金溶液于 2 个 1.5 mL 离心管中，用硼酸缓冲液调节至最适 pH。再分别加入 IgG、mAb，混匀，室温静置 30 min 后，加入 100 μL 0.1 g/mL BSA 封闭 30 min，4 ℃、12000 r/min 离心 30 min，弃上清，沉淀用胶体金重悬液进行复溶，分别制备出 2 种金标抗体溶液。

1.3.4　胶体金免疫层析检测卡制备

胶体金免疫层析检测卡的结构如图 1 所示，具体制备步骤如下。

金标微孔制备：将金标抗体溶液等体积混匀，准确移取 25 μL 加入金标微孔，再加入 50 μL 冻干保护剂，混匀后置于冷冻干燥机中，–70 ℃预冻 3 h，–55 ℃真空干燥 48 h。马拉硫磷 Ag 和 0.3 mg/mL 的羊抗鼠 IgG 分别喷涂在 NC 膜上作为检测线(T 线)和质控线(C 线)，42 ℃烘干待用。

胶体金免疫层析检测卡组装：将样品垫、NC 膜、吸水纸按照顺序依次粘贴在 PVC 底板上，样品垫位于 NC 膜下方，每个连接处均重叠 2 mm，然后将组装好的长板切成 4 mm 宽的试纸条，装上外壳，密封干燥保存备用。



注：1. 样品垫；2. T 线；3. C 线；4. NC 膜；5. 吸水纸；6. PVC 底板。

图 1　GICA 检测卡结构示意图

Fig.1　Schematic structure of GICA test card

1.3.5　样品分析与结果判定

样品前处理：将金银花样品用剪刀剪碎，准确称量剪碎后的取金银花 1.00 g(精确至 0.01 g)置于 50 mL 离心管中，加入 10 mL 金银花专用提取液，并振荡提取 5 min，4000 r/min 离心 3 min，上清液即为待测液。

样品检测与结果判定：吸取 150 μL 待测液于金标微孔，反复轻柔吹吸 30 s 至微孔的试剂完全溶解，室温孵育 2 min；从金标微孔中吸取 100 μL 反应液滴加于检测卡加样区，室温反应 5 min。检测结果的判定依据如下：(1)阳性。C 线显色而 T 线不显色，或 T 线显色但强度明显弱于 C 线，这表明样本中的分析物抑制了抗体与 T 线抗原的结合。(2)阴性。C 线与 T 线均清晰显色，且 T 线显色强度与 C 线相当或更强。(3)无效。C 线未显色，表明层析过程失败或检测卡失效。

1.3.6　GICA 检测条件优化

(1)抗原包被量的优化

将马拉硫磷抗原用 20 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.8)分别进行梯度稀释，最终使马拉硫磷 Ag 的质量浓度为：0.2、0.4、0.8 mg/mL，并将其分别喷涂到 NC 膜上形成 T 线。将马拉硫磷的标准品溶液稀释至 100 ng/mL 作为工作液，作为阳性对照，并以 50 mmol/L Tris-HCl 稀释液(pH 8.0)作为空白对照。在反应结束后根据 T 线和 C 线显色以及加标抑制情况，确定抗原的最佳包被量。

(2)最适抗体标记量的优化

向胶体金溶液中分别添加不同含量的马拉硫磷 mAb (3.0、6.0、12.0 μg)，按照 1.3.3 节制备金标抗体。马拉硫磷的标准品溶液分别用提取液稀释至 5 μg/L 作为工作液，作为阳性对照，并以试剂盒提取液作为空白对照。在反应结束后根据 T 线和 C 线显色以及加标抑制情况，确定金标抗体制备的最佳抗体添加量。

(3)最佳 pH 的优化

选择 pH 范围为 7.5~9.5 的缓冲液，按照 1.3.3 节和 1.3.5 节分别进行金标抗体制备和分析检测。通过观察 T 线和 C 线的显色及 NC 膜膜面颜色变化情况，确定制备金标抗体的最佳 pH。

(4) Tween 20 添加量的优化

分别移取 0、20、50、100 μL Tween 20 于 10 mL 样品

提取液中混匀。分别将不同 Tween 20 含量的样品提取液与金标抗体混匀孵育 2 min，滴加于检测卡加样区，并根据反应液的层析情况以及 T 线和 C 线的显色及 NC 膜膜面颜色变化情况，确定样品提取液中最佳表面活性剂的含量。

(5)冻干保护剂的优化

根据以上实验选择最佳 pH 和抗体添加量后，对蔗糖、BSA 和甘露醇最佳的用量进行了优化。设计了 5 种冻干保护剂组合，分别为保护剂 A (1.0 g 蔗糖+1.0 g BSA+1.0 g 甘露醇)、保护剂 B (0.5 g 蔗糖+0.5 g BSA+0.5 g 甘露醇)、保护剂 C (1.0 g 蔗糖+0.5 g BSA+0.3 g 甘露醇)、保护剂 D (0.5 g 蔗糖+1.0 g BSA+0.3 g 甘露醇)和保护剂 E (0.5 g 蔗糖+0.5 g BSA+1.0 g 甘露醇)。将上述 5 种冻干保护剂分别加入 10 mL 50 mmol/L Tris-HCl 稀释液(pH 8.0)溶解，吸取 50 μL 加到微孔板中，然后再加入金标抗体后混匀冷冻干燥。加入阴性样品提取液 150 μL，进行层析反应，等反应结束根据 T 线和 C 线的显色情况，分析不同冻干保护剂用量的保护效果。

1.3.7 性能评价

(1)检出限

基于已建立的 GICA，分别以阴性金银花为基质，做一系列梯度加标实验，即马拉硫磷物加标量：0、10、25、50、100、200 μg/kg；按照 1.3.5 节对样品进行分析与结果判定，以 T 线颜色明显小于 C 线时的最低浓度作为本方法的检出限。

(2)特异性

基于已建立的 GICA，分别以阴性金银花为基质，开展药物的交叉反应实验。选取水胺硫磷、丙溴磷、甲拌磷、倍硫磷各药物加标量分别为：200、1000、400、500 μg/kg；分别加入称好的金银花中，经过提取和检测以验证该方法的特异性。

(3)准确性实验

经 GB 23200.10—2016《食品安全国家标准 桑枝、金银花、枸杞子和荷叶中 488 种农药及相关化学品残留量的测定 气相色谱-质谱法》检测后马拉硫磷含量低于 0.1000 mg/kg 的样品为阴性样品，在阴性样品中添加不同浓度的马拉硫磷(0.1、0.2、0.4 mg/kg)，制成阳性样品 200 份(每种添加浓度的样品为 50 份)。对于 200 份阴性和阳性样品各，使用 3 批不同批次的试纸条对上述样品重复检测 3 次，分别计算假阳性率和假阴性率。

(4)稳定性

随机选取 3 个批次(20231012、20231016、20231023)的检测卡干燥密封，分别置于 4、25 和 37 ℃下储存，90 d 后取出备用。选用 1 倍检出限加标样品和阴性样品，分别进行分析实验，以验证该方法的稳定性。

1.3.8 方法的实际应用

选用市售金银花共 20 份，采用本方法和 GB 23200.10—2016 进行检测，比较分析本研究建立的方法与标准方法的一致性。

1.4 数据处理

所有实验处理都设置 3 个或 3 个以上的重复，所有重复的测试结果皆为阳性时，该处理获得结果才被认定为阳性。使用 Excel 2020 进行结果相关表格的制作，使用 Adobe IllustratorCS6 软件进行结果相关图片的整理和排版。

2 结果与分析

2.1 胶体金质量鉴定结果

通过肉眼观察，胶体金溶液呈酒红色，透亮无杂质，上层无油状漂浮物，因此可初步判定胶体金制备成功(图 2A)。透射电镜的观察结果显示：胶体金平均粒径为 20 nm，大小一致，分布均匀，进一步证明胶体金溶液制备成功(图 2B)。

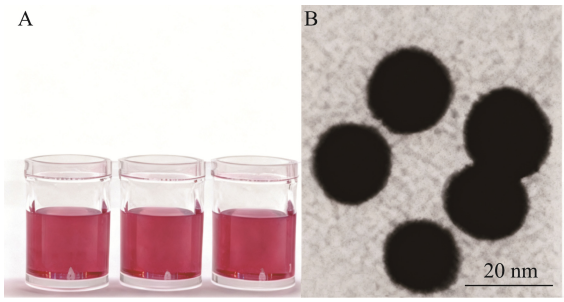


图 2 胶体金溶液外观(A)和胶体金透射电镜扫描图(B)

Fig.2 Appearance of colloidal gold solution (A) and transmission electron microscopy photos of colloidal gold (B)

2.2 金标抗体质量鉴定结果

利用紫外可见分光光度计对制备的金标抗体进行光谱扫描，可以发现：胶体金溶液的最大吸收峰出现在 520 nm 处，而胶体金标记的 mAb 和 IgG 的最大吸收峰则分别出现在 525 nm、526 nm 处(图 3)。金标抗体的最大吸收峰发生红移说明其物质结构发生改变，证实金标抗体制备成功。

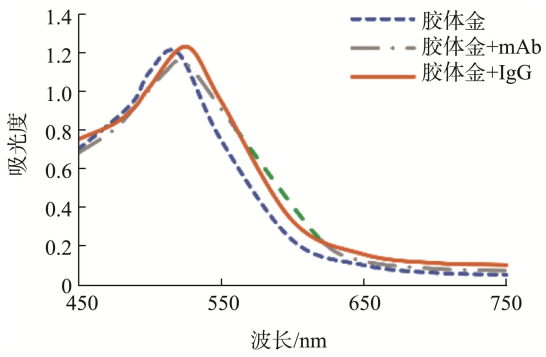


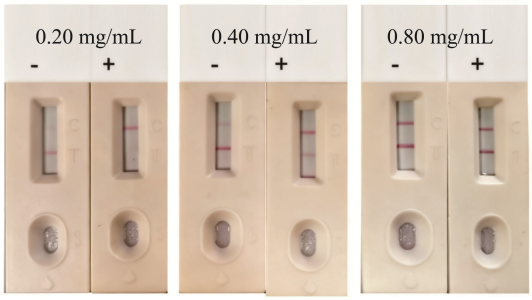
图 3 胶体金与金标抗体的紫外可见吸收光谱

Fig.3 Ultraviolet-visible absorption spectra of colloidal gold and gold-labeled antibodies

2.3　GICA 检测条件优化结果

2.3.1　抗原包被量的优化结果

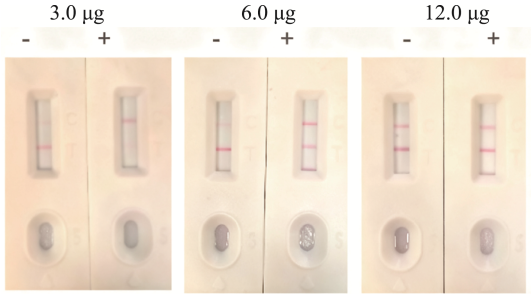
将马拉硫磷 Ag 的质量浓度分别稀释成 0.20、0.40、0.80 mg/mL 然后进行包被，从测试结果可以看出当包被质量浓度在 0.40 mg/mL 时，阴性最为明显，且阴阳性对比最为明显(图 4)。因此，可以确定 0.40 mg/mL 为最佳抗原包被质量浓度。



注：-. 阴性；+. 阳性。
图 4　抗原包封结果
Fig.4　Results of optimal antigen encapsulation

2.3.2　抗体添加量的优化结果

分别加入 3.0、6.0、12.0 μg 马拉硫磷 mAb 进行测试可以发现：当加入 6.0 μg 马拉硫磷 mAb 时，空白对照的 T 线显色清晰(图 5)，且阳性对照的抑制效果好，满足目视法判定要求。因此，可以确定最适宜马拉硫磷 mAb 加入量作为 6.0 μg。



注：3.0、6.0、12.0 μg 分别为加入 3.0、6.0、12.0 μg 抗体。
图 5　最适抗体标记量结果
Fig. 5　Results of optimal antibody addition

2.3.3　pH 的优化结果

本研究还比较了不同 pH 条件下的检测效果。结果表明：当胶体金溶液的 pH 为 9.0 时，胶体金标记的马拉硫磷 mAb 和羊抗鼠 IgG 的颜色最深，膜面相对干净 T 线和 C 线颜色区别明显(图 6)。因此，马拉硫磷 mAb 和羊抗鼠 IgG 金标抗体制备的最适 pH 应为 9.0。

2.3.4　Tween 20 添加量的优化结果

样品提取液中添加 Tween 20 能够避免金标抗体在 NC 膜上会出现堵塞现象。本研究分析了不同的 Tween 20 添加量的测试效果(图 7)。结果表明：在稀释液中添加一定体积的 Tween 20 时，则堵塞现象消失。但随着 Tween 20 添加体积的增大，T 线显色明显减弱，影响最终的检测结果。加入 50 μL Tween 20 时，T 线颜色最深，可以判定 50 μL Tween 20 为最适宜。

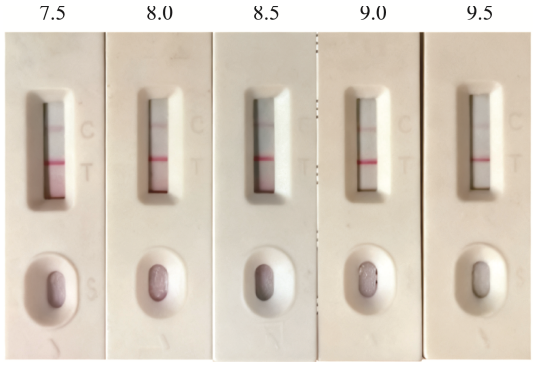
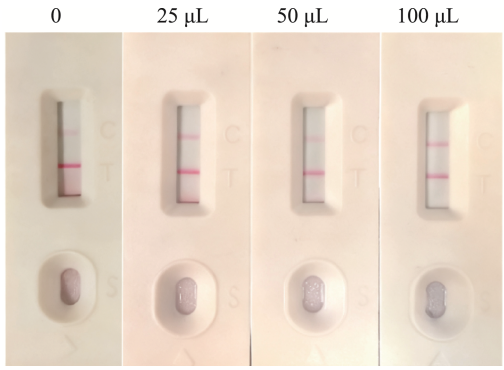


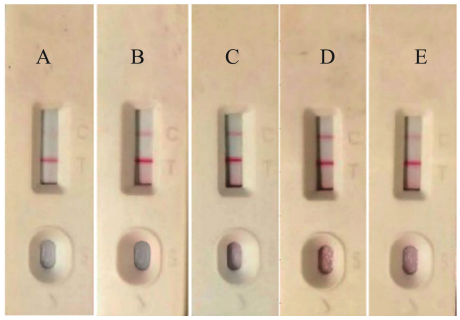
图 6　pH 优化结果
Fig.6　Results of pH optimization



注：0、25、50、100 μL 分别为 Tween 20 添加量。
图 7　Tween 20 不同添加量的检测结果
Fig. 7　Results of different spiked levels of Tween 20

2.3.5　冻干保护剂的优化

本研究还分析了不同的冻干保护剂对于测试效果的影响(图 8)。结果显示：单纯冻干的金标抗体在检测时显色减弱，直接影响到目视判定；而添加保护剂的金标抗体显色较为清晰。在多种保护剂中，保护剂 A 颜色偏浅，C、D、E 却能引起胶体金在 NC 膜底部聚集，易出现假阴性。因此，可以确定保护剂 B (0.5 g 蔗糖+0.5 g BSA+0.5 g 甘露醇)是金标抗体的较为适宜的冻干保护剂。



注：A. 1.0 g 蔗糖+1.0 g BSA+1.0 g 甘露醇；B. 0.5 g 蔗糖+0.5 g BSA+0.5 g 甘露醇；C. 1.0 g 蔗糖+0.5 g BSA+0.3 g 甘露醇；D. 0.5 g 蔗糖+1.0 g BSA+0.3 g 甘露醇；E. 0.5 g 蔗糖+0.5 g BSA+1.0 g 甘露醇。
图 8　不同成分冻干保护剂的检测结果
Fig.8　Results of different lyophilized protective agents

2.4 性能评价分析

2.4.1 检出限结果

利用以上优化后的方法，进行了不同浓度马拉硫磷的检测(表 1)，结果显示：马拉硫磷加标浓度大于等于 50 μg/kg 时检测结果全部为阳性，说明该方法应用于银花中的马拉硫磷的检出限为 50 μg/kg。

表 1 马拉硫磷的检出限(*n*=5)
Table 1 Limit of detection of malathion (*n*=5)

基质	禁用药物	添加水平/(μg/kg)	检测结果				
金银花	马拉硫磷	0	−	−	−	−	−
		10	−	−	−	−	−
		25	−	+	−	−	−
		50	+	+	+	+	+
		100	+	+	+	+	+

注：+代表阳性；−代表阴性，表 2、4~6 同。

2.4.2 特异性结果

同时，本研究还进行了反应特异性的测试。由表 2 可以看出：马拉硫磷与水胺硫磷(200μg/kg)、丙溴磷(1000μg/kg)、甲拌磷(400μg/kg)、倍硫磷(500μg/kg)均无交叉反应产生，说明该方法的检测特异性较好。

表 2 交叉反应实验结果(*n*=3)
Table 2 Results of cross-reactivity (*n*=3)

目标化合物	其他有机磷类药物	添加水平/(μg/kg)	检测结果		
马拉硫磷	水胺硫磷	200	−	−	−
	丙溴磷	1000	−	−	−
	甲拌磷	400	−	−	−
	倍硫磷	500	−	−	−

2.4.3 准确性结果

对于建立方法的准确性，分析结果(表 3)表明：在 200 个阴性样品(无马拉硫磷的白金银花)中，出现了 2 例阳性结果；在 200 个阳性样品(马拉硫磷添加量为 50 μg/kg 的金银花)中，出现了 1 例阴性结果。说明该方法假阳性率为 1%，假阴性率为 0.5%。

表 3 马拉硫磷快速检测试结果
Table 3 Results of rapid detection of malathion

样品情况	检测结果	
	阳性	阴性
阳性样品	199	1
阴性样品	2	198
假阴性率/%	0.5	
假阳性率/%	1.0	

为进一步证实 GICA 的准确性，将本方法与参比方法的检测结果进行比较分析(表 4)，结果表明：GICA 与参比方法的检测结果相同，一致率为 100%。

表 4 GICA 与参比方法检测样本中马拉硫磷的含量(*n*=3)
Table 4 Results of determination of malathion in samples by GICA and comparison method (*n*=3)

药物	基质	添加水平/(μg/kg)	GICA 检出结果			参比方法/(μg/kg)
马拉硫磷	金银花	0	−	−	−	未检测到
		50	+	+	+	51
		100	+	+	+	93
		200	+	+	+	188

2.4.4 稳定性结果

本研究利用加标样品和空白样品测试了基于本方法制备的检测卡在室温下的储存稳定性。由表 5 可知，在贮存时间小于 12 月的情况下，检测卡的功能都能有效地保持(能够对含 50 μg/kg 马拉硫磷的样品进行准确的检测)。由此可见，该检测卡在室温、密封、干燥环境条件下可以保存 1 年。

表 5 稳定性实验(*n*=6)
Table 5 Stability determination (*n*=6)

储存温度/℃	储存时间/月	检测结果					
		空白			1 倍检出限(样品含 50 μg/kg 马拉硫磷)		
25	3	−	−	−	+	+	+
	6	−	−	−	+	+	+
	9	−	−	−	+	+	+
	12	−	−	−	+	+	+

2.5 实际应用效果

为验证所建立的方法的实际应用效果，在市场上随机选取了 20 份金银花作为供试材料，采用本研究建立的方法进行检测并与参与方法进行了比较(表 6)。结果表明：20 份样品中，有 1 份样品经参比方法检测显示马拉硫磷含量为 63 μg/kg，同时经本方法检测结果也呈阳性，说明在实际应用的过程中参比方法与本方法检测结果高度一致。

表 6 市售金银花中药物残留的检测结果(*n*=3)
Table 6 Detection results of drug residues for *Lonicera japonica* samples from market (*n*=3)

样品序号	GICA			参比方法/(μg/kg)
1	−	−	−	−
2	+	+	+	63
3	−	−	−	−
4	−	−	−	−

表 6(续)

样品序号	GICA			参比方法/(μg/kg)
5	–	–	–	–
6	–	–	–	–
7	–	–	–	–
8	–	–	–	–
9	–	–	–	–
10	–	–	–	–
11	–	–	–	–
12	–	–	–	–
13	–	–	–	–
14	–	–	–	–
15	–	–	–	–
16	–	–	–	–
17	–	–	–	–
18	–	–	–	–
19	–	–	–	–
20	–	–	–	–

3　讨论与结论

金银花在种植的过程中会发生多种虫害(蚜虫、尺蠖、银花叶蜂、红蜘蛛等)[24–25], 马拉硫磷因其具有较好的毒杀和防治效果, 被广泛应用于金银花的种植[26–27], 但马拉硫磷具有较强的神经毒性和肝脏毒性[28], 限制使用马拉硫磷正在成为农产品和中药材生产上的共识[29]。目前, 中国药典尚未对金银花中马拉硫磷残留量做出明确的限量要求[30], 这可能是市场上很多金银花样品中能够检测到马拉硫磷的一个重要原因。

为保障金银花药材的安全性, 建立和发展金银花农药残留的快速高效检测方法是必不可少的工作。目前对于金银花中有机磷农药残留的检测方法以气相色谱法为主[31–32], 无法满足快速、高效、大规模的检测要求。本研究基于胶体金免疫层析法建立了金银花样品中马拉硫磷残留量的快速检测方法, 实验结果显示该方法的检出限为 50 μg/kg, 低于相关的国家标准(0.1000 mg/kg), 说明该方法灵敏性较高, 符合要求。同时, 测试结果还显示其他的有机磷化合物(水胺硫磷、丙溴磷、甲拌磷、倍硫磷)均不能引起阳性反应, 说明该方法具有很强的特异性。在本方法的准确性测试结果中, 假阳性率为 1.0%, 假阴性率为 0.5%, 这个现象可能原因是金银花成分比较复杂, 会对抗原和抗体反应产生了一定的干扰。但在实际测试中, 样本检测结果与气相色谱-串联质谱法检测结果一致, 说明基于本方法制作的检测卡的检测结果准确可信。本研究还分析了不同存放时间的检测卡的测试效果差异, 发现在 1 年以内检测结果准确、稳定, 符合相关要求。因具有成本较低、操作简便、检测速度快、准确性高等优点, 本研究方法适用于基层大批量样本检测和现场快速检测, 对指导金银花的种植和加工, 以及保障金银花质量安全具有重要价值。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中国药典 2020 年版一部[J]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's republic of China, volume I [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020.

[2] 唐志强, 程雪梅, 刘谦, 等. 金银花外观性状与主要有效成分含量的相关性研究[J]. 山东农业科学, 2023, 55(11): 115–121.
TANG ZQ, CHENG XM, LIU Q, *et al*. Study on the correlation between external characteristics and main active component content of *Lonicera japonica* [J]. Shandong Agricultural Sciences, 2023, 55(11): 115–121

[3] 李克杰, 石路德, 周洪雷. 金银花质量研究进展[J]. 食品与药品, 2022, 24(2): 178–182.
LI KJ, SHI LD, ZHOU HL. Research progress on quality of *Lonicera japonica* [J]. Food and Drug, 2022, 24(2): 178–182.

[4] 李家春, 伍静玲, 秦建平, 等. 基于 OuEChERS 法-超高效液相色谱-串联质谱法的 5 种中药材中 35 种有机磷农药残留量的快速分析[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(1): 122–128.
LI JC, WU JL, QIN JP, *et al*. Rapid analysis of 35 organophosphorus pesticide residues in five Chinese herbal medicines by QuEChERS-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2016, 36(1): 122–128.

[5] 刘姣, 刘雪峰, 樊宝娟, 等. GC-MS 法测定 18 种药材中的农药残留量[J]. 西北药学杂志, 2017, 32(1): 9–13..
LIU J, LIU XF, FAN BJ, *et al*. Determination of pesticide residues in 18 kinds of Chinese herbal medicine by GC-MS [J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2017, 32(1): 9–13..

[6] LI Q, ZHANG J, LIN T, *et al*. Migration behavior and dietary exposure risk assessment of pesticides residues in honeysuckle (*Lonicera japonica* Thunb.) based on modified QuEChERS method coupled with tandem mass spectrometry [J]. Food Research International, 2023, 166: 112572.

[7] GUO K, WU X, ZHANG F, *et al*. Deep eutectic solvents-based ultrasonic-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of organophosphorus pesticides in honeysuckle dew samples [J]. Molecules. 2024, 29(14): 3423.

[8] 赵万里. 超高效液相色谱-质谱法检测水中微量马拉硫磷[J]. 化工管理, 2021, 4: 76–77.
ZHAO WL. Determination of trace malathion in water by ultra performance liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Chemical Enterprise Management, 2021, 4: 76–77.

[9] WU P, WANG P, GU M, *et al*. Human health risk assessment of pesticide residues in honeysuckle samples from different planting bases in China [J]. Science of the Total Environment, 2021, 759: 142747.

[10] MATOS F, CASTANHEIRA F, BARROSO M, *et al*. Development and validation of a multi-substance method for routine analysis of pesticides in post-mortem samples by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2024, 245: 116176.

[11] SALEHI E, DEHGHAN K, NAJARZADEKAN H, *et al*. Natural thymol-tert-butylhydroquinone-based deep eutectic solvent/vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for organophosphorus pesticide extraction in water samples [J]. Journal of Separation Science, 2025, 48(11): e70315.

[12] 周嘉明, 封冰, 智军海. 三氯杀螨醇胶体金免疫快速检测试纸条研制及在茶叶中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 8(15): 5337–5342.
ZHOU JM, FENG B, ZHI JH. Development of a colloidal gold immunochromatographic strip for rapid detection of dicofol and its application in tea [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 8(15): 5337–5342.

[13] 王宇婷, 孔维军, 杨美华, 等. 胶体金层析技术及其在外源性有害残留物快速检测方面的应用进展[J]. 中国药学杂志, 2014, 49(19): 1682–1686.
WANG YT, KONG WJ, YANG MH, *et al*. Colloidal gold chromatography and its application progress in rapid detection of exogenous harmful residues [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2014, 49(19): 1682–1686.

[14] 罗俊霞, 张刚, 申战宾, 等. 胶体金免疫层析技术应用于农药残留检测的研究进展[J]. 农产品质量与安全, 2022(1): 41–49.
LUO JX, ZHANG G, SHEN ZB, *et al*. Research progress in the application of colloidal gold immunochromatography for pesticide residue detection [J]. Quality and Safety of Agro-products, 2022(1): 41–49.

[15] 龚频, 王思远, 陈雪峰, 等. 胶体金免疫层析试纸条技术及其在食品安全检测中的应用研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(13): 358–364.
GONG P, WANG SY, CHEN XF, *et al*. Research progress on colloidal gold immunochromatographic strip technology and its application in food safety detection [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 40(13): 358–364.

[16] 智军海, 孟超, 周嘉明. 双甲脒胶体金免疫快速检测试纸条研制及在蜂蜜中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(10): 3290–3295.
ZHI JH, MENG C, ZHOU JM. Development of an amitraz colloidal gold immunochromatographic strip and its application in honey [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2022, 13(10): 3290–3295.

[17] WANG Y, FU Y, MIAO K, *et al*. A colloidal gold immunochromatographic method for rapid screening of imidacloprid residues in Chinese herbal medicines [J]. Journal of Chromatography. B, Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences, 2024, 1244: 124240.

[18] 吴雨豪, 刘文娟, 武燕华, 等. 多枝状胶体金免疫层析试纸条定量检测猪尿中沙丁胺醇[J]. 生物加工过程, 2018(2): 74–79.
WU YH, LIU WJ, WU YH, *et al*. Quantitative detection of salbutamol in swine urine using dendrimer-mediated colloidal gold immunochromatographic strip [J]. Bioprocess, 2018(2): 74–79.

[19] 罗锦霞, 黄璇莹, 黄启红, 等. 蔬菜水果中有机磷农药残留检测方法的比较研究[J]. 食品安全导刊, 2025(8): 71–73, 79.
LUO JX, HUANG XY, HUANG QH, *et al*. Comparative study on detection methods for organophosphorus pesticide residues in vegetables and fruits [J]. China Food Safety Magazine, 2025(8): 71–73, 79.

[20] 邓家军, 杨琳芬, 张富生, 等. 胶体金免疫层析法与酶抑制率法快速检测果蔬中农药残留比较研究[J]. 安徽农业科学, 2021, 49(4): 191–197.
DENG JJ, YANG LF, ZHANG FS, *et al*. Comparative study on rapid detection of pesticide residues in fruits and vegetables by colloidal gold immunochromatography and enzyme inhibition rate method [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2021, 49(4): 191–197.

[21] 朱亮亮, 王琳琛, 王兆芹, 等. 检测 4 种有机磷农药胶体金免疫层析试纸条的研制[J]. 山东畜牧兽医, 2019, 40(8): 10–12.
ZHU LL, WANG LC, WANG ZQ, *et al*. Development of a colloidal gold immunochromatographic strip for detection of four organophosphorus pesticides [J]. Shandong Journal of Animal Science and Veterinary Medicine, 2019, 40(8): 10–12.

[22] SHU Q, WANG L, OUYANG H, *et al*. Multiplexed immunochromatographic test strip for time-resolved chemiluminescent detection of pesticide residues using a bifunctional antibody [J]. Biosens Bioelectron, 2017, 87: 908–914.

[23] 王菡, 李高华, 张阳, 等. 胶体金侧向流免疫层析技术检测有机磷农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(11): 4409–4415.
WANG H, LI GH, ZHANG Y, *et al*. Detection of organophosphorus pesticide residues by colloidal gold lateral flow immunochromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2015, 6(11): 4409–4415.

[24] 李红伟, 王磊, 范重阳. 药用植物金银花繁殖栽培技术[J]. 现代农村科技, 2015(4): 34–35.
LI HW, WANG L, FAN CY. Propagation and cultivation techniques of the medicinal plant *Lonicera japonica* [J]. Modern Rural Science and Technology, 2015(4): 34–35.

[25] 易思荣, 申明亮, 黄娅, 等. 中药材金银花常见病虫害综合防治技术[J]. 亚太传统医药, 2011, 7(7): 23–25.
YI SR, SHEN ML, HUANG Y, *et al*. Integrated control techniques for common diseases and pests in the Chinese herb *Lonicera japonica* [J]. Asia-Pacific Traditional Medicine, 2011, 7(7): 23–25.

[26] 李冰, 魏新田. 金银花病虫害的识别症状及防治方法[J]. 现代农业科技, 2012(22): 134.
LI B, WEI XT. Identification symptoms and control methods of diseases and pests in *Lonicera japonica* [J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2012(22): 134.

[27] 雷紫依, 苏光林, 李跑. 植物源性食品中多农药残留 GC-MS 高通量快速检测技术研究进展[J]. 分析测试学报, 2023, 10: 1370–1380.
LEI ZY, SU GL, LI P. Research progress on high-throughput GC-MS rapid detection techniques for multiple pesticide residues in plant-derived foods [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2023, 10: 1370–1380.

[28] 李东坡, 高叶俊, 任思敏. QEChERS 提取和 LC-MS/MS 技术检测金银花中农药残留[J]. 广东化工, 2021, 16: 245–248.
LI DP, GAO YJ, REN SM. Determination of pesticide residues in *Lonicera japonica* by QuEChERS extraction and LC-MS/MS [J]. Guangdong Chemical Industry, 2021, 16: 245–248.

[29] 宋睿. 金银花的应用价值及经济效益分析[J]. 种子科技, 2020, 38(14): 104–105.
SONG R. Application value and economic benefit analysis of *Lonicera japonica* [J]. Seed Science & Technology, 2020, 38(14): 104–105.

[30] 叶贵标, 庄慧千, 朱光艳, 等. 我国金银花农药残留情况及病虫害防治用药登记进展[J]. 农药科学与管理, 2020, 41(5): 26–32.
YE GB, ZHUANG HQ, ZHU GY, *et al*. Pesticide residues in *Lonicera japonica* in China and progress in pesticide registration for disease and pest control [J]. Pesticide Science and Administration, 2020, 41(5): 26–32.

[31] 李嘉欣, 石上梅, 薛健. 有机磷类禁限用农药在金银花中的残留状况及风险评估[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(11): 2333–2338.
LI JX, SHI SM, XUE J. Residue levels and risk assessment of banned and restricted organophosphorus pesticides in *Lonicera japonica* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2018, 43(11): 2333–2338.

[32] 顾炎, 薛健, 金红宇, 等. 金银花中有机磷类农药测定方法建立及残留状况调查[J]. 中国现代中药, 2016, 18(9): 1148–1152.
GU Y, XUE J, JIN HY, *et al*. Establishment of a determination method and investigation of residues of organophosphorus pesticides in *Lonicera japonica* [J]. Modern Chinese Medicine, 2016, 18(9): 1148–1152.

(责任编辑: 蔡世佳 安香玉)