



# 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4322—2015

## 食品接触材料 高分子材料 双酚 A 残留量的测定 酶联免疫法

Food contact material—Polymer materials—Determination of bisphenol A  
residue—Enzyme linked immunosorbent assay

2015-09-02 发布

2016-04-01 实施



中 华 人 民 共 和 国  
国家质量监督检验检疫总局 发 布

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国上海出入境检验检疫局、上海近岸科技有限公司。

本标准主要起草人：杨捷琳、缪文彬、冉晓园、朱化星、王敏、蒋伟、何宇平、潘良文、朱洪坤、吕蓉、陈相、陶海华。

# 食品接触材料 高分子材料

## 双酚 A 残留量的测定 酶联免疫法

### 1 范围

本标准规定了高分子材料中双酚 A 残留量的酶联免疫测定方法。

本标准适用于高分子材料中双酚 A 残留量的测定。

### 2 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。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

### 3 方法提要

试样中残留的双酚 A 与试剂盒中的双酚 A 竞争性结合已包被在板上的双酚 A 特异性抗体。再与随后加入的酶标二抗,形成抗原—抗—二抗复合物。复合物与显色剂发生反应,用酶标仪测定吸光度值。吸光度值与试样中双酚 A 残留量呈负相关。

### 4 试剂和材料

除另有规定外,所有试剂均采用分析纯或生化试剂,实验用水应符合 GB/T 6682 中一级水的规格。

4.1 双酚 A 标准物质(Bisphenol A,CAS 号:80-05-7):纯度 $\geq 99\%$ 。

4.2 甲醇。

4.3 1×样品提取液:试剂盒中提供 8×样品提取液,使用前按照 1:7(8×样品提取液:水)稀释,样品提取液主要成分为磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered solution)。

4.4 双酚 A 抗试剂(一抗)。

4.5 双酚 A 酶标物(二抗)。

4.6 洗涤液(1×):试剂盒中提供 10×浓缩洗涤液,使用前按照 1:9(10×浓缩洗涤液:水)稀释。

4.7 底物液 A 液。

4.8 底物液 B 液。

4.9 终止液。

4.10 双酚 A 标准工作溶液:可使用试剂盒中提供的标准工作溶液,浓度为 0、0.3、1、3、10、30、100 ng/mL,也可以自行配制标准工作溶液。标准工作溶液配制方法如下:准确称取 50.0 mg 双酚 A 标准物质(4.1)于 100 mL 容量瓶中,加入少量甲醇(4.2)溶解后,用甲醇定容至刻度,浓度为 50 mg/mL,然后根据需要的标准溶液工作浓度进行稀释。

4.11 双酚 A 酶联免疫吸附测定试剂盒(参见附录 A)。

## 5 仪器和设备

- 5.1 酶标仪:波长 450 nm。
- 5.2 天平:感量为 0.1 mg。
- 5.3 均质器。
- 5.4 旋涡振荡器。
- 5.5 离心机:转速不低于 4 000 r/min。
- 5.6 注射过滤器:2 mL,并带有孔径为 0.45 μm 的水相针头式过滤膜。
- 5.7 微量单道/多道移液器:10 μL~100 μL;100 μL~1 000 μL;50 μL~300 μL。

## 6 测定方法

### 6.1 试样提取

将塑料制品切割或剪成长 1 cm、宽 2 mm 的小段。称取(0.5±0.01)g 塑料制品至玻璃管中,加入 1×样品提取液(4.3)10 mL,于 70℃~80℃超声提取 60 min;取适量的样品上清液用注射过滤器过滤。吸取 300 μL 滤液,冷却至室温后用于酶联免疫分析。

### 6.2 酶联免疫测定

试剂盒中所有试剂的温度均应回升至室温(20℃~24℃)后方可使用。将测定所需的微孔条插入微孔架上,记录标准工作溶液与样液等在微孔架上的位置。分别加入 50 μL 的标准工作溶液(4.10)和样液于对应的孔中;在每孔中加入 100 μL 一抗(4.4),轻轻摇动微孔板以圆周运动方式混匀;室温(20℃~25℃)孵育 30 min;洗板 3 次,每次加入 250 μL 1×洗液,最后一次尽量吸干;每孔加入 150 μL 1×二抗(4.5);室温(20℃~25℃)孵育 30 min;洗板 3 次,每次加入 250 μL 1×洗液,最后一次尽量吸干;加入 50 μL 的底物 A 溶液(4.7)和 50 μL 的底物 B 溶液(4.8),室温避光显色 15 min;加入 100 μL 的终止液(4.9)终止反应,10 min 内用波长 450 nm 的酶标仪测定吸光度值。

### 6.3 平行试验

按以上步骤,对同一标准溶液、同一样品溶液均应进行平行试验测定。

### 6.4 空白试验

除不加试样外,均按上述测定步骤进行。

### 6.5 监控试验

每次测定均应做一个添加双酚 A 标准工作溶液(4.10)的样品,添加浓度为本方法的检测低限。

## 7 结果计算

### 7.1 相对吸光度值的计算

分别计算标准和样品的平均吸光值。按式(1)计算标准液和样液的相对吸光度值。

$$A = B/B_0 \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$



式中:

$A$  ——相对吸光度值;

$B$  ——标准工作溶液和样液的平均吸光度值;

$B_0$  ——0 ng/mL 标准工作溶液的平均吸光度值。

## 7.2 绘制标准工作曲线

以相对吸光度值为纵坐标,标准工作溶液中双酚 A 浓度为横坐标绘制标准曲线。每次实验均需重新绘制标准工作曲线,参见附录 B。

## 7.3 试样中双酚 A 残留量的计算

从标准曲线上读取相对吸光度值所对应的双酚 A 浓度( $c$ ),按式(2)计算试样中的双酚 A 残留量:

$$X = c \times R \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

$X$  ——试样中双酚 A 残留量,单位为微克每千克( $\mu\text{g}/\text{kg}$ );

$c$  ——根据相对吸光度值查得试样中双酚 A 浓度,单位为微克每升( $\mu\text{g}/\text{L}$ );

$R$  ——稀释倍数,其数值为 20。

计算结果以平行测定值的算术平均值表示,保留三位有效数字。

## 8 确证试验

如果试样中双酚 A 残留量大于限量要求时,应用仪器法进行确证。

## 9 测定低限

本方法的测定低限为 1 ng/mL。

## 10 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不超过算术平均值的 30%。

SN/T 4322—2015

附录 A  
(资料性附录)

双酚 A(Bisphenol A)ELISA 检测试剂盒(北京华安麦科公司)<sup>1)</sup>

A.1 试剂盒组成

酶标板	96 孔板
双酚 A 抗试剂(一抗)	6 mL
双酚 A 酶标物(二抗)	6 mL
标准液(Standards)(0、1、5、10、30、90 ng/mL)	6×1 mL
底物液 A 液	6 mL
底物液 B 液	6 mL
终止液	6 mL
浓缩洗涤液(10×)	40 mL
双酚 A 浓缩样品提取液(8×)	40 mL
双酚 A 样品稀释液	40 mL

A.2 试剂盒的保存

本试剂盒应当在 2℃~8℃ 的温度下储存,有效期为 1 年。如果超过 3 个月不使用试剂盒,请将一抗和二抗放置-20℃ 保存。

A.3 试剂盒验收

试剂盒到货时或放置后一段时间仍未使用时,使用前应对试剂盒进行验收核查,以确保试剂盒质量及检测结果的准确性。

1) 该试剂盒可用于食品包装袋、塑料瓶等样品中双酚 A 残留量的定性、定量检测。给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有相同的效果,可经实验计估后使用这些等效产品。

附 录 B  
(资料性附录)  
双酚 A 标准工作曲线

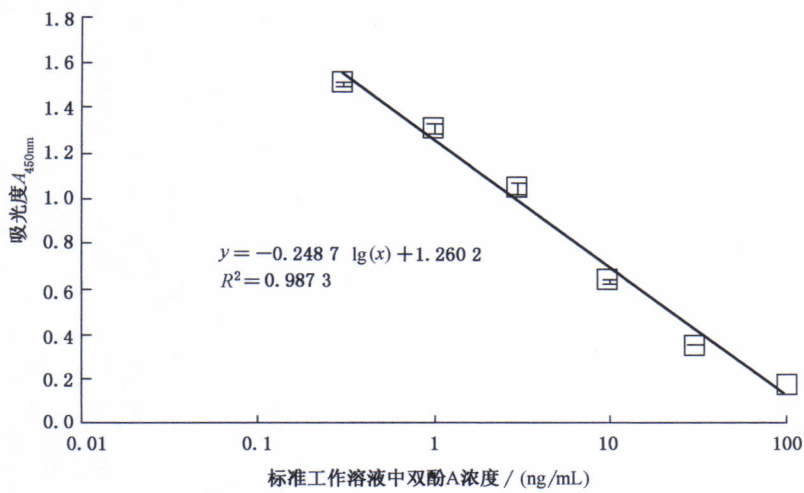


图 B.1 双酚 A 标准工作曲线