



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101915831 A

(43) 申请公布日 2010. 12. 15

(21) 申请号 201010262012. 3

(22) 申请日 2010. 08. 25

(71) 申请人 南开大学

地址 300071 天津市南开区卫津路 94 号

(72) 发明人 郝日沫 薛虎寅 孟萌 张太昌

张元阳 徐静 王亚宾

(74) 专利代理机构 天津佳盟知识产权代理有限公司

公司 12002

代理人 侯力

(51) Int. Cl.

G01N 33/543(2006. 01)

G01N 33/535(2006. 01)

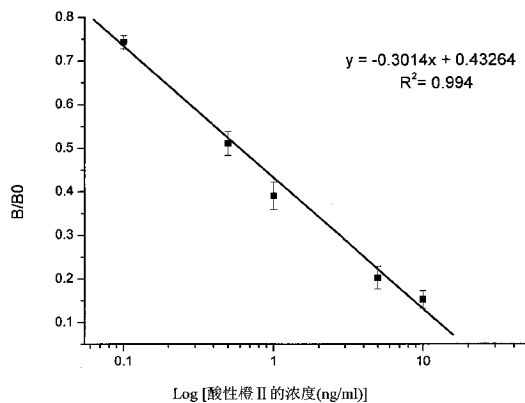
权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 2 页

(54) 发明名称

一种酸性橙 II 的酶联免疫检测试剂盒

(57) 摘要

一种酸性橙 II 的酶联免疫检测试剂盒。属于酶联免疫吸附分析技术领域。本发明提供的试剂盒中的试剂包括：包被有包被抗原即酸性橙 II 与载体蛋白的偶联物的酶标板，酸性橙 II 标准溶液，酶标羊抗兔抗体溶液，酸性橙 II 抗体溶液，发光溶液，洗涤溶液，包被溶液和封闭溶液。偶联物的载体蛋白为分子量范围在 6. 7KDa ~ 6. 8KDa 的牛血清蛋白或卵清蛋白。包被酶标板的包被抗原由酸性橙 II 与卵清蛋白偶合制成，制备抗体的人工免疫原由酸性橙 II 与牛血清蛋白偶合制成。试剂盒对酸性橙 II 的最大检测范围为 0. 1ng/mL ~ 10ng/mL。本发明的酶联免疫检测试剂盒具有简单、快捷、准确、灵敏度高的特点，可在食品（如卤制品、辣椒面）和饮料中非食用合成色素酸性橙 II 检测中发挥重要作用。



1. 一种酸性橙 II 的酶联免疫检测试剂盒,其特征是该试剂盒中试剂的组成包括:
 - A、各孔包被有包被抗原即酸性橙 II 与载体蛋白的偶联物的酶标板 1 块;
 - B、酸性橙 II 标准溶液 :0.1ng/mL、0.5ng/mL、1ng/mL、5ng/mL、10ng/mL 各 1 瓶;
 - C、酶标羊抗兔抗体溶液 :辣根过氧化物酶 - 羊抗兔 IgG 原液,使用时用洗涤溶液稀释成 1 : 2000 的工作浓度;
 - D、酸性橙 II 抗体溶液 :人工免疫抗原免疫动物制备所得的多克隆抗体原液,使用时用洗涤溶液稀释成 1 : 40000 工作浓度;
 - E、发光溶液 :使用 400u1 TMB 溶液、10ml pH = 5.0 的柠檬酸缓冲液和 2u1 30%的 H₂O₂ 溶液混合而成,其中 TMB 溶液由 10mgTMB+2ml DMSO 混合而成;
 - F、洗涤溶液 :为 pH = 7.5、浓度为 0.1mol/L 的磷酸盐缓冲液,其中含有吐温 -20 体积分数 0.05%;
 - G、包被溶液 :1.59g 碳酸钠和 2.53g 碳酸氢钠溶于 1L 水中制成的溶液,调节 pH = 9.5;
 - H、封闭溶液 :10g OVA 溶于 1L 洗涤溶液中,再加入质量分数 0.05% NaN₃ 制成。
2. 根据权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在于 :所述偶联物的载体蛋白为分子量范围是 6.7KDa ~ 6.8KDa 的牛血清蛋白或卵清蛋白。
3. 根据权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在于 :包被酶标板的包被抗原由酸性橙 II 与卵清蛋白偶合制成,制备抗体的人工免疫原由酸性橙 II 与牛血清蛋白偶合制成。
4. 根据权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在于 :所述包被抗原浓度为 1 μ g/mL。
5. 根据权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在于 :酸性橙 II 的最大检测范围为 0.1ng/mL ~ 10ng/mL。

一种酸性橙 II 的酶联免疫检测试剂盒

【技术领域】

[0001] 本发明属于酶联免疫吸附分析技术领域,涉及一种酶联免疫检测试剂盒,尤其涉及一种酸性橙 II 的酶联免疫检测试剂盒。

【背景技术】

[0002] 偶氮类染料 (azo dye) 是一种重要的合成染料,是纺织品服装在印染工艺中应用最广泛的一类合成染料,用于多种天然和合成纤维的染色和印花,也用于油漆、塑料、橡胶等的着色。偶氮染料本身无任何直接的致癌作用,但是在体内还原分解,可形成芳香胺化合物,芳香胺在体内经过代谢活动后与靶细胞作用可能使 DNA 发生变化,成为人体病变的诱发因素,对人体或动物有潜在的致癌性和致突变性。由于其致癌性和致突变性,世界上很多国家都对偶氮类染料的使用实施了严格的规定。日本曾批准使用的合成色素有 27 种,现已禁止使用其中的 16 种。美国 1960 年允许使用的合成色素有 35 种,现只剩下 7 种。瑞典、芬兰、挪威、印度、丹麦、法国等早已禁止使用偶氮类色素,其中挪威等一些国家还完全禁止使用任何化学合成色素。此外还有一些国家已禁止在肉类、鱼类及其加工品、水果及其制品、调味品、婴儿食品、糕点等食品中添加合成色素。我国对在食品中添加合成色素也有严格的限制:凡是肉类及其加工品、鱼类及其加工品、醋、酱油、腐乳等调味品、水果及其制品、乳类及乳制品、婴儿食品、饼干、糕点都不能使用人工合成色素。只有汽水、冷饮食品、糖果、配制酒和果汁露可以少量使用,一般不得超过 1/10000。目前我国批准使用的食用合成色素有 9 个品种,即苋菜红、诱惑红、胭脂红、新红、酸性红、柠檬黄、日落黄、靛蓝和亮蓝。酸性橙 II 是一类成型偶氮染料,广泛用于纺织印染、皮革、造纸、橡胶、塑料、涂料、化妆品、木材加工等,在我国禁止被用作食品添加剂。但是由于酸性橙 II 色泽鲜艳、着色稳定、价格低廉等特点,一些不法商贩为了牟取暴利将其作为食用色素用于食品生产与加工。我国市售和出口海外的蜜饯、豆制品、卤制品、辣椒面、红壳瓜子等均被检出过含有酸性橙 II 等类似合成非食用色素,严重危害了消费者的身体健康,并且常常导致出口食品被迫就地销毁。所以,酸性橙 II 检测方法的开发研究已刻不容缓。

[0003] 在偶氮类色素的检测中,仪器法如高效液相色谱以及液相-质谱联用是应用最广泛的方法。这些方法准确,稳定,可靠,可以作为标准方法。但仪器法价格昂贵,费时较长,需要大型仪器设备,需要专门的技术人员,所以难以用于现场操作。

[0004] 酶联免疫检测法 (ELISA) 提供了一种极好的扫描手段。该法具有快速,准确,简易,不需要专门人员操作等优点,这使得 ELISA 法成为一种理想的,可用于常规扫描的检测方法,因此建立一种有效的 ELISA 法检测酸性橙 II 的方法具有重要意义。

【发明内容】

[0005] 本发明目的是克服现有技术存在的上述不足,提供一种酸性橙 II 的酶联免疫检测试剂盒。

[0006] 本发明提供的酸性橙 II 酶联免疫检测试剂盒中试剂的组成包括:

- [0007] A、各孔包被有包被抗原即酸性橙 II 与载体蛋白的偶联物的酶标板 1 块；
- [0008] B、酸性橙 II 标准溶液：0.1ng/mL、0.5ng/mL、1ng/mL、5ng/mL、10ng/mL 各 1 瓶；
- [0009] C、酶标羊抗兔抗体溶液：辣根过氧化酶-羊抗兔 IgG 原液，使用时用洗涤溶液稀释成 1：2000 的工作浓度；
- [0010] D、酸性橙 II 抗体溶液：人工免疫抗原免疫动物制备所得的多克隆抗体原液，使用时用洗涤溶液稀释成 1：40000 工作浓度；
- [0011] E、发光溶液：使用 400 μ l TMB 溶液、10ml pH = 5.0 的柠檬酸缓冲液和 2 μ l 30% 的 H₂O₂ 溶液混合而成，其中 TMB 溶液由 10mgTMB+2ml DMSO 混合而成；
- [0012] F、洗涤溶液：为 pH = 7.5、浓度为 0.1mol/L 的磷酸盐缓冲液，其中含有吐温-20 体积分数 0.05%；所述的磷酸盐用磷酸氢二钠和磷酸二氢钾配制。
- [0013] G、包被溶液：1.59g 碳酸钠和 2.53g 碳酸氢钠溶于 1L 水中制成的溶液，调节 pH = 9.5；
- [0014] H、封闭溶液：10g OVA 溶于 1L 洗涤溶液中，再加入质量分数为 0.05% NaN₃ 制成。
- [0015] 以上所述偶联物的载体蛋白为分子量范围在 6.7KDa ~ 6.8KDa 的牛血清蛋白或卵清蛋白。包被酶标板的包被抗原由酸性橙 II 与卵清蛋白偶合制成，制备抗体的人工免疫原由酸性橙 II 与牛血清蛋白偶合制成。
- [0016] 所述包被抗原浓度为 1 μ g/mL。
- [0017] 所述的试剂盒对酸性橙 II 的最大检测范围为 0.1ng/mL ~ 10ng/mL。
- [0018] 本发明试剂盒中涉及的相关溶液的配制
- [0019] 1、本发明中酶标板的制备
- [0020] 本发明中包被的酶标板，是采用酸性橙 II -OVA 在适合的包被溶液中，以适当的浓度，在 4°C 中过夜反应包被。
- [0021] 本发明采用的是 pH 为 9.5 的碳酸钠-碳酸氢钠缓冲溶液。本发明中酶标板中所包被的酸性橙 II -OVA 在碱性环境下可以很好的结合在酶标板塑料表面上，可以经受多次洗板，采用的包被蛋白浓度为 1 μ g/mL。
- [0022] 包被好的酶标板可以用含封闭溶液封闭，封闭液中惰性蛋白可以是 OVA，需加入 NaN₃ 防止变质。
- [0023] 2、酸性橙 II 抗体溶液和酶标羊抗兔抗体溶液的制备
- [0024] 本发明中酸性橙 II 抗体溶液、酶标羊抗兔抗体溶液浓度是决定本发明中酸性橙 II 酶联免疫测试试剂盒测定范围及灵敏度的重要因素。
- [0025] 本发明中涉及的酸性橙 II 标准溶液可以用洗涤溶液配制浓度为 0.1 ~ 10ng/mL。
- [0026] 本发明中涉及的酶标羊抗兔抗体溶液可以用洗涤溶液配制的浓度为 1：2000。
- [0027] 按照上述酸性橙 II 抗体溶液浓度和酶标羊抗兔抗体溶液浓度可制备的试剂盒可以达到很好的线性范围（标准线范围可以达到 0.1ng/mL ~ 10ng/mL）及和好的灵敏度（2.0ng/mL）。
- [0028] 3、发光溶液的配制
- [0029] 本发明采用辣根过氧化酶标记底物发光系统，主要是四甲基联苯胺（TMB）-过氧化氢系统。
- [0030] 所述发光液是 400 μ l TMB 溶液（10mgTMB+2ml DMSO）与 10ml 柠檬酸缓冲液（pH =

5.0) 和 2u1 30% H₂O₂ 溶液混合而成。

[0031] 本发明的优点和积极效果

[0032] 本发明的原理是将抗体-抗原反应的高度特异性与酶催化的高度灵敏性结合起来,利用酶催化底物的发光反应检测产物浓度。

[0033] 本发明的酶联免疫检测试剂盒具有灵敏度高、简便快速、准确的特点,可在食品(如卤制品、辣椒面)和饮料中非食用合成色素酸性橙 II 检测中发挥重要作用。

【附图说明】

[0034] 图 1 为本发明酸性橙 II 抗体的抑制率曲线。

[0035] 图 2 为本发明的工作曲线。

【具体实施方式】

[0036] 实施例 1、检测酸性橙 II 的酶联免疫试剂盒组分及制备过程

[0037] 1、检测酸性橙 II 的酶联免疫试剂盒的组成

[0038] A、包被有包被抗原(酸性橙 II 与载体蛋白的偶联物)的固相载体(酶标板);

[0039] B、酸性橙 II 标准溶液:0.1ng/mL、0.5ng/mL、1ng/mL、5ng/mL、10ng/mL。

[0040] C、酶标羊抗兔抗体溶液:酶标羊抗兔抗体为辣根过氧化物酶-羊抗兔 IgG 原液,装入,使用时用洗涤溶液配制成 1:2000 的工作浓度。

[0041] D、酸性橙 II 抗体溶液:用人工免疫抗原免疫动物制备所得的多克隆抗体,将所得酸性橙 II 抗体用洗涤溶液稀释成 1:40000 工作浓度。

[0042] E、发光溶液:使用 400u1 TMB 溶液(10mgTMB+2ml DMSO)与 10ml 柠檬酸缓冲液(pH5.0)和 2u1 30% H₂O₂ 溶液混合。

[0043] F、洗涤溶液:含有体积分数 0.05%吐温-20 的 pH7.5、0.1mol/L 磷酸盐缓冲液。

[0044] G、包被溶液:1.59g 碳酸钠和 2.53g 碳酸氢钠溶液 1L 水中,调节 pH9.5。

[0045] H、封闭溶液配制:10g OVA 溶于 1L 洗涤溶液中,再加入 0.05% NaN₃。

[0046] 2、酶标板的制备

[0047] 用包被液将包被抗原稀释成 1μg/mL,每孔加入 100μL,36℃ 孵育 2h,倾去包被液,每孔加入 300μL 洗涤液洗涤 3 次,拍干,然后每孔加入封闭液 250μL,4℃ 过夜,倾去孔内液体,洗涤液洗涤 3 次,拍干,用锡箔纸真空密封保存。

[0048] 3、免疫原的合成

[0049] A、将酸性橙 II 与二氯亚砷以 1:3 的摩尔比溶在甲苯中,60℃ 反应 2h 后停止。旋蒸除去剩余的二氯亚砷与甲苯,抽滤,红外灯下烘干,得到酸性橙 II-磺酰氯。

[0050] B、将酸性橙 II-磺酰氯与苯丙氨酸甲酯以 1:1 的摩尔比溶于丙酮中,在 3 倍量三乙胺的作用下室温反应 8h 后停止,旋蒸除去丙酮,抽滤,红外灯下烘干,得到酸性橙 II-苯丙氨酸甲酯。

[0051] C、将酸性橙 II-苯丙氨酸甲酯溶于甲醇,30℃ 下在 NaOH 溶液中反应 0.5h。调节 PH 为酸性,抽滤,红外灯下烘干,得到酸性橙 II-苯丙氨酸。

[0052] D、将 NHS 和 DCC 以 1:1 的摩尔比溶于二氯甲烷中,再将酸性橙 II-苯丙氨酸加入到 NHS 和 DCC 的混合溶液中,4℃ 反应 24h,旋蒸除去二氯甲烷,得到酸性橙 II 活化酯。

[0053] E、将酸性橙 II 活化酯和牛血清蛋白 BSA 以 30 : 1 的摩尔比溶于 PBS 缓冲溶液中, 4℃ 下搅拌反应 6-7h。透析, 高速离心, 冻干上清液, 得到酸性橙 II 免疫原的橙色固体粉末。

[0054] 4、包被抗原的合成

[0055] 将 3 中得到的酸性橙 II 活化酯和卵清蛋白 OVA 以 30 : 1 的摩尔比溶于 PBS 缓冲溶液中, 4℃ 下搅拌反应 6 ~ 7h。透析, 高速离心, 冻干上清液, 得到酸性橙 II 包被抗原的橙色固体粉末。

[0056] 5、酸性橙 II 多克隆抗体的制备

[0057] 采用新西兰大白兔作为免疫动物, 以酸性橙 II 与牛血清蛋白的偶联物为免疫原, 首次免疫剂量为 500 μ g/mL, 首免时将免疫原溶于入等体积的生理盐水和弗氏完全佐剂制成乳化剂, 颈背部多点注射, 以后免疫取剂量减半的免疫原溶于等体积的生理盐水和弗氏不完全佐剂混合乳化, 首免与二免间隔 20 天, 以后每隔两周免疫一次共免疫五次, 最后一次不加佐剂。最后一次免疫 7 天以后心脏采血, 离心得抗血清, 得到酸性橙 II 多克隆抗体。

[0058] 实施例 2、ELISA 检测方法的建立

[0059] (1) 抗体与包被抗原浓度的优选 (方阵)

[0060] 纵向用每种包被抗原按 10.0 μ g/mL、5.0 μ g/mL、1.0 μ g/mL、0.1 μ g/mL、0.01 μ g/mL、0.001 μ g/mL 的系列稀释度包被酶标板, 100 μ L/孔, 36℃ 放置 2 小时, 用洗涤液洗板三次, 每次拍干; 250 μ L/孔封闭溶液封闭, 0 ~ 4℃ 放置过夜, 洗板三次, 每次拍干; 加入 100 μ L/孔一系列稀释的抗体 (1 : 5000 至 1 : 640000), 36℃ 放置 0.5 小时, 洗板三次, 每次拍干; 加入 100 μ L/孔的 1 : 2000 的辣根过氧化物酶 - 羊抗兔 IgG 抗体, 36℃ 放置 0.5 小时, 洗板三次, 每次拍干; 加入 100 μ L/孔的发光液, 测定发光值。以发光值随包被抗原的浓度有明显梯度变化的包被抗原浓度和抗体稀释度为最佳浓度进行特异性测定。

[0061] (2) 抗体灵敏度的测定

[0062] 根据上述对抗体及包被抗原浓度的优选实验, 申请人选择并确定抗体浓度为 1 : 40000, 包被抗原浓度为 1 μ g/mL 进行抗体的灵敏度的测定:

[0063] A、包被: 用 0.05M pH9.6 的碳酸盐包被溶液将酸性橙 II 的包被抗原配成 1 μ g/mL 的溶液, 每个聚苯乙烯板的反应孔中加 100 μ L, 36℃ 放置 2 小时, 弃去孔内溶液, 用洗涤缓冲液洗 3 次, 300 μ L/孔, 每次 5 分钟, 拍干。(此步简称洗涤, 下同)。

[0064] B、封闭: 用封闭溶液封闭上述已包被的酶标板, 250 μ L/孔, 0 ~ 4℃ 放置过夜, 然后洗涤。

[0065] C、加样: 加稀释酸性橙 II 抗体 (1 : 40000) 50 μ L/孔与不同浓度的酸性橙 II 溶液 50 μ L/孔于上述已封闭的反应孔中, 36℃ 放置 0.5 小时, 然后洗涤。

[0066] D、加酶标抗体: 于各反应孔中, 加入新鲜稀释辣根过氧化物酶 - 羊抗兔 IgG 的抗体 (1 : 2000) 100 μ L/孔, 0.5 小时, 洗涤。

[0067] E、发光: 于各反应孔中加入临时配制的发光溶液 100 μ L/孔, 立即用酶标仪检测。

[0068] F、检测结果以抑制率计算: %抑制率 = % B/B₀, B 是不同浓度的药物作为竞争者的发光值, B₀ 是不加药的发光值。计算 50% 抑制率时药物的浓度即为该抗体的灵敏度。

[0069] 实施例 3、检测酸性橙 II 的酶联免疫试剂盒的应用

[0070] (1) 试剂的配制

[0071] A、样品稀释液：将试剂盒中提供的浓缩磷酸盐缓冲溶液用蒸馏水稀释 10 倍后使用。

[0072] B、洗涤溶液：将试剂盒中提供的浓缩洗涤液用蒸馏水稀释 10 倍后使用。

[0073] C、发光溶液：400 μ l TMB 溶液 (10mgTMB+2ml DMSO)+10ml 柠檬酸缓冲液 (pH5.0)+2 μ l 30% H₂O₂ 溶液

[0074] (2) 样品前处理

[0075] A、橙汁 首先将购买的橙汁样品在 4℃、10000 转 / 分钟条件下，离心 15 分钟，将橙汁上清液用洗涤液稀释成 1 : 10，得到待测样品。

[0076] B、卤制品、辣椒面 称取 5g 样品，研磨粉碎，加无水乙醇 - 氨水 - 水 (体积比 70 : 1 : 29) 溶液 20ml，振摇 0.5h，过滤，洗滤渣 2 次，合并滤液，用水 (pH = 6) 定容，过 0.45 μ m 滤膜测定。

[0077] (3) 检测步骤

[0078] A、加样：向酶标板微孔中加入酸性橙 II 系列标准浓度溶液或样品溶 50 μ L，然后加入酸性橙 II 抗体溶液 50 μ L，室温 (25℃) 恒温孵育 1h；

[0079] B、洗涤：倾出孔中液体，每孔加入洗涤溶液 300 μ L，洗涤 3 次，拍干；

[0080] C、加酶标羊抗兔抗体溶液：每孔加入酶标羊抗兔抗体溶液 100 μ L，室温恒温孵育 1h；

[0081] D、洗涤：倾出孔中液体，每孔加入洗涤溶液 300 μ L，洗涤 3 次，拍干；

[0082] E、加发光溶液：每孔加入发光溶液 100 μ L；

[0083] F、检测：用酶标仪测定每孔的发光强度。

[0084] (4) 结果判断

[0085] 所获得的标准品和样品发光值的平均值除以第一个标准 (0 标准) 的发光值再乘以 100，以抑制率为纵坐标，酸性橙 II 浓度的对数为横坐标作标准曲线，每一个样品的浓度可以从标准曲线上读出。

[0086] %抑制率 = %标准品发光值 (或样品) / 0 标准品发光值。

[0087] 实施例 4、试剂盒精密度和准确度试验

[0088] 取 0.1, 0.5, 1, 5, 10ppb 的酸性橙 II 标样，添加到橙汁样品中，来检测酸性橙 II 回收率。每个浓度的批间变异系数都以不同的 5 天的 5 个重复数据进行计算，批内变异系数以同一天的 5 次重复数据计算。根据制定的标准曲线的线性方程进行回收率的定量计算。结果见下表。

[0089]

添加浓度 (ppb)	检测次数 n	批间			批内			
		检测结果 (ppb)	回收率 (%)	变异系数 (%)	检测次数 n	检测结果 (ppb)	回收率 (%)	变异系数 (%)
0.1	5	0.10 ± 0.03	103	16.8	5	0.08 ± 0.02	80	19.2
0.5	5	0.59 ± 0.11	118	14.5	5	0.53 ± 0.08	106	11.2
1	5	0.97 ± 0.15	97	13.2	5	0.91 ± 0.21	91	9.9
5	5	5.31 ± 0.98	106	8.93	5	5.30 ± 0.86	106	7.6
10	5	10.5 ± 2.65	105	12.5	5	10.1 ± 2.71	101	14.5

[0090] 从上述测定结果看,变异系数低于 19.2%,回收率在 80 ~ 118%之间。表明本试剂盒有很好的重复性和准确度。

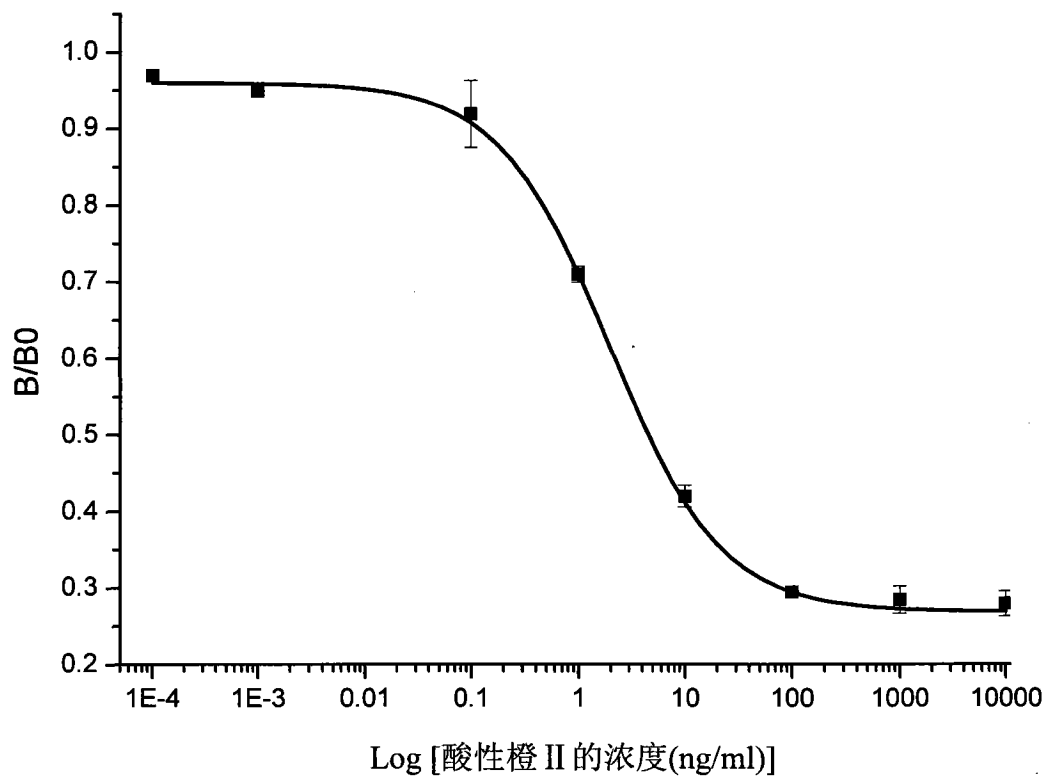


图 1

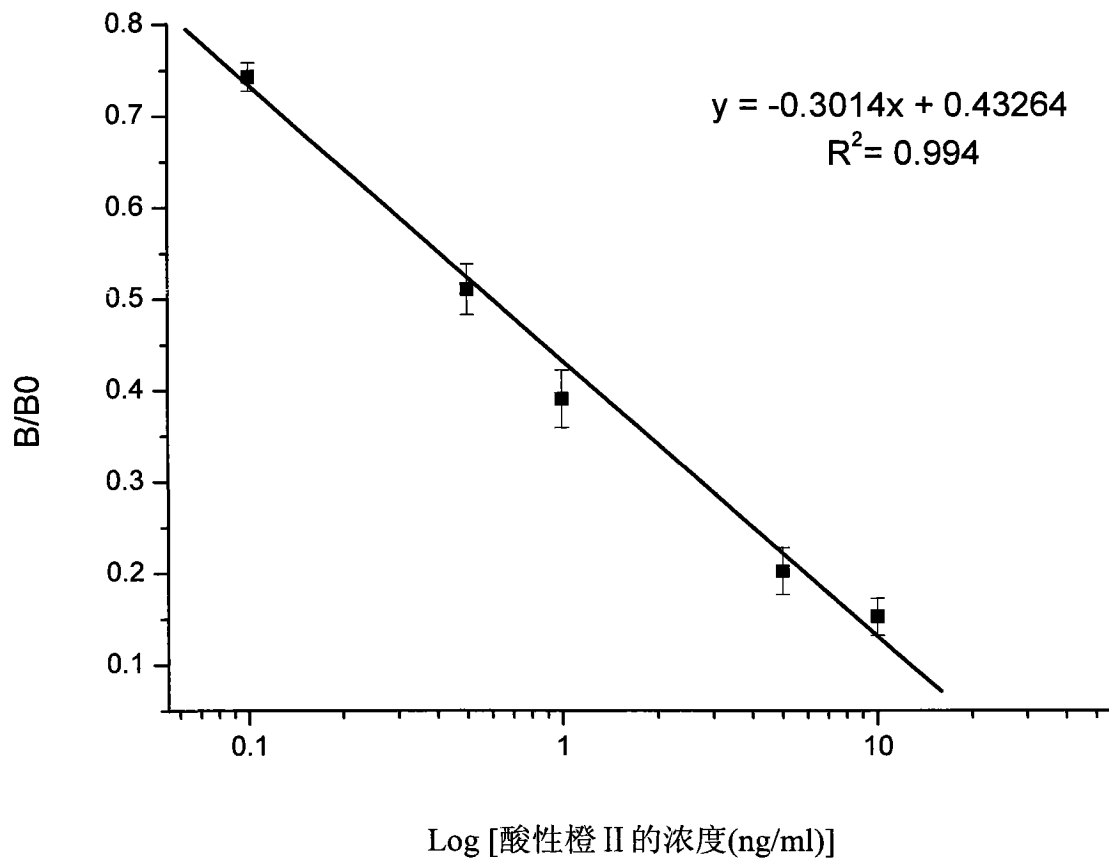


图 2

专利名称(译)	一种酸性橙II的酶联免疫检测试剂盒		
公开(公告)号	CN101915831A	公开(公告)日	2010-12-15
申请号	CN201010262012.3	申请日	2010-08-25
[标]申请(专利权)人(译)	南开大学		
申请(专利权)人(译)	南开大学		
当前申请(专利权)人(译)	南开大学		
[标]发明人	郗日沫 薛虎寅 孟萌 张太昌 张元阳 徐静 王亚宾		
发明人	郗日沫 薛虎寅 孟萌 张太昌 张元阳 徐静 王亚宾		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/535		
代理人(译)	侯力		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种酸性橙II的酶联免疫检测试剂盒。属于酶联免疫吸附分析技术领域。本发明提供的试剂盒中的试剂包括：包被有包被抗原即酸性橙II与载体蛋白的偶联物的酶标板，酸性橙II标准溶液，酶标羊抗兔抗体溶液，酸性橙II抗体溶液，发光溶液，洗涤溶液，包被溶液和封闭溶液。偶联物的载体蛋白为分子量范围在6.7KDa~6.8KDa的牛血清蛋白或卵清蛋白。包被酶标板的包被抗原由酸性橙II与卵清蛋白偶合制成，制备抗体的人工免疫原由酸性橙II与牛血清蛋白偶合制成。试剂盒对酸性橙II的最大检测范围为0.1ng/mL~10ng/mL。本发明的酶联免疫检测试剂盒具有简单、快捷、准确、灵敏度高的特点，可在食品(如卤制品、辣椒面)和饮料中非食用合成色素酸性橙II检测中发挥重要作用。

