

量和 GB 13106—91 的指标估计我国居民膳食锌摄入量 38.2 mg/d,说明此标准指标即满足营养的需要,同时也是安全的。

1999 年 CCFAC 第 31 次会议决定不再将锌、铁、

铜作为污染物指标列在污染物的通用标准中,而将它们作为质量指标列入产品标准中。

[待续]

[收稿日期:2001-08-08]

中图分类号:R15;TS201.6 文献标识码:E 文章编号:1004-8456(2002)01-0047-07

乳酸菌检测方法(综述)

张一凡 冉 陆 罗雪云

(卫生部食品卫生监督检验所 北京 100021)

乳酸菌是一类能利用可发酵糖产生大量乳酸的细菌总称,这个名称就细菌分类学而言是一非正式、非规范的名称。目前在自然界已发现的这类菌在细菌分类学上划分出至少 23 个属,涉及到的有关属则更多,包括乳杆菌属、双歧杆菌属、链球菌属、肠球菌属等。而相当多的乳酸菌对人、畜的健康起着有益的作用。近年来,随着微生物学研究的不断发展,越来越多的实验证明有益细菌对人体健康的重要作用,微生态制剂也因此应运而生。目前我国微生态制剂利用的益生菌近 10 种,其中除了乳杆菌和乳酸链球菌有国家的标准检验方法外,大部分菌种均无统一的标准方法,难于对该类产品进行质量控制,保证其安全性。故急需建立规范的标准检验方法,以便对微生态制剂进行监督管理,保障其功能、安全性及质量,以保护消费者的健康和利益。本文即对目前国内外用于乳酸菌检测的方法做一综述。

1 表型特征鉴定方法

1.1 形态和生理生化特征鉴定法

形态和生理生化特征鉴定是实验室进行常规菌种鉴定中最常用和最关键的环节。其中,细菌显微形态观察指标主要有革兰氏染色、细胞形态、运动性、是否有芽孢、鞭毛等。另外,近年来研制成功的多种有益菌的糖类生化反应板,已使生化鉴定从原来的复杂繁琐变得简单易行,便于推广。在众多的细菌快速鉴定系统中,API 系统是在世界范围内应用最广,种类最多的系统。需要注意的是,许多乳酸菌仅凭形态和生化试验不能准确鉴定。如双歧杆菌属的种间鉴别及双歧杆菌属与乳杆菌属的属间鉴别。

1.2 抗菌谱试验分类法^[1]

各种细菌对不同抗菌药物的敏感性不一,同一种细菌的不同菌株对不同抗菌药物的敏感性也常存

有差异,不过后者的差异仍有一定的范围,对抗菌药物的敏感性的差异程度往往显示了不同种类细菌所具有的特征,所以这种特征可以成为细菌分类鉴定上的指征。在乳酸菌的鉴定中也是如此。不同的乳酸菌都有其各自的抗菌谱,而对每一种抗生素,不同的乳酸菌会表现出不同的敏感度,从而做出判断。

1.3 化学分类法^[2]

乳酸菌的菌体组分或代谢产物在不同种属间存在差异,通过测定这些成分的含量,可以进行菌种鉴定。如:乳酸旋光性的测定,乳酸菌含有的醌分析,细胞壁肽聚糖组分和结构分析。

另外,在厌氧细菌和兼性厌氧细菌属、种的鉴定中,一个不可缺少的依据是糖类代谢的特异性终产物,如同型发酵的乳酸杆菌主要产乳酸;异型发酵的乳酸杆菌则产生等摩尔的乳酸、乙酸、CO₂;双歧杆菌的代谢产物的摩尔比为 3:2 的乙酸、乳酸及少量的甲酸和琥珀酸等。目前应用于厌氧菌代谢产物的分析方法有不少,^[3]如层析法、裂解法、气相色谱法、离子色谱法。而应用最广泛的是气、液相色谱法,其中在国家标准检验方法的报批稿中,利用气相色谱法对双歧杆菌和乳酸杆菌进行属间鉴定已成为必做项目之一。

气相色谱法在细菌鉴定中不仅用于代谢终产物的测定,还用于细菌全细胞化学组分分析,后者已成为细菌化学分类的方法之一。分析的对象包括菌体脂肪酸组分、菌体单糖及其他生物大分子等。菌体脂肪酸组分气相色谱图形法使用范围很广,适用于所有体外细胞培养物。细胞单糖的分析对于革兰氏阳性菌更具有重要的分类学意义,生物大分子可用裂解气相色谱法进行分析。^[1]

离子色谱法和气相色谱法从分析厌氧菌的代谢产物结果来看,在总体上无明显差异,但离子色谱法具有以下优点:^[4]

(1) 可快速同时测定挥发性脂肪酸(VFA)和非挥发性脂肪酸(NVFA),而气相色谱法需两次分别进样;

(2) 易于掌握,试样不需复杂的预处理;

(3) 设备简单,不用载气,仪器成本低,稳定时间短,更适于临床检验和基层单位推广使用。

1.4 双歧杆菌的酶学鉴定法^[5]

双歧杆菌是目前较常用的益生菌之一,其特征性酶的识别对于属及种的鉴定具有重要意义。果糖-6-磷酸盐磷酸酮酶(Fructose-6-phosphate phosphoketolase, F6PPK)在双歧杆菌己糖代谢中起关键作用,它裂解果糖-6-磷酸,使双歧杆菌发酵糖类的终产物乙酸和乳酸呈3:2的比例。因此检测出F6PPK可作为鉴定双歧杆菌属细菌的重要特征之一。菌体细胞经超声波破碎后,F6PPK游离出来,使果糖-6-磷酸盐最终生成乙酰磷酸盐,乙酰磷酸盐与FeCl₃结合形成它的氧酸盐,显示红褐色或红紫色而被检测出来。因此经以上程序测定如显色则F6PPK为阳性,否则为阴性。

Booth等(1994)^[6]纯化了短双歧杆菌的F6PPK并制备了单克隆抗体,用该抗体做Western blot和斑点印迹,检测乳酸菌混合菌落中的双歧杆菌。结果该抗体与其他乳酸菌均无交叉反应。Gill等(1995)^[7]纯化了长双歧杆菌、牙双歧杆菌、球形双歧杆菌和动物双歧杆菌的F6PPK,这些酶在二价阳离子和普通抑制剂作用下均无差别。

2 分子生物学及基因水平的鉴定方法

随着科学的发展和新技术的应用,细胞学、分子生物学和遗传学等学科的发展及其研究方法和技术对细菌分类学的渗入,使细菌分类学逐渐提高到了一个新的水平。从20世纪60年代以后细菌分类学已步入分子生物学时代,对细菌的辨认已不限于对一般表型指征的鉴别,而是深入到基因型性状的鉴定,并使细菌分类工作在研究自然界各类群细菌种类及其相互间的亲缘关系、探索建立自然分类系统方面加速了前进的步伐。

2.1 聚合酶链式反应(PCR)方法

PCR技术是在模板DNA、引物(模板片段两端的已知序列)和四种脱氧核苷酸等存在的情况下,DNA聚合酶依赖的酶促合成反应,其扩增的特异性取决于引物与模板DNA的特异结合。

Kok等(1996)^[8]根据一种双歧杆菌的菌株LW420的16s rRNA的基因序列设计出3种具有菌株特异性的PCR引物。分别用这些引物扩增后,可检测到LW420特异性的PCR产物。该方法可分析

纯培养或混合培养中的LW420菌株。同时,还设计了两种属特异性引物Bif164和Bif662。

Dong等人(2000)^[9]根据5种双歧杆菌的16s rRNA基因序列设计出5个种特异性(正向),其靶序列分别对应于16s rRNA上的不同位置,利用5种引物的混合物并结合以一属特异性引物(反向),对纯培养或混合培养细菌DNA进行扩增后,5种双歧杆菌可同时被鉴定出来。

2.2 随机扩增多态性DNA(Random Amplified Polymorphic DNA RAPD)方法

该方法是以PCR为基础的DNA指纹图谱法。它根据PCR技术原理,以随机合成的寡核苷酸为引物,对研究对象的基因组DNA进行扩增,其PCR产物的带谱(DNA指纹图谱)在一定程度上反映了所研究基因组的DNA多态性。^[10]与常规PCR反应不同的是RAPD在每次反应中所用的引物为单一引物,引物的长度一般是10个核苷酸。RAPD一出现即以其简便、快速和多态性检出率高而引起了科学工作者的极大兴趣。

用RAPD鉴定双歧杆菌时,郑忠辉等人(1997)^[10]选用了11种引物,以嗜酸乳杆菌为对照,对6种13株双歧杆菌菌株基因组DNA进行PCR扩增,分析其DNA指纹图谱,并计算其相似性指数(SI)。结果表明,嗜酸乳杆菌与双歧杆菌的平均SI为13.79%,而双歧杆菌的6个种种间的平均SI为40.91%,因此可以用作双歧杆菌的鉴别。然而,双歧杆菌属内不同种及同种不同菌株间的平均SI差异并不显著,难以作为鉴定参考指标,但是通过比较RAPD图谱,发现选择合适的引物扩增后,各物种间的扩增图谱表现出一定的差异,有其扩增的特殊谱带,所以有可能作为区分不同种的指标。

2.3 DNA的G+C含量测定法^[12]

每个物种的DNA都有特定的G+C含量。动植物变动幅度较窄和相似,而原核生物范围较宽,达25~76 mol%。同一属的细菌的G+C含量范围12 mol%,种的范围5 mol%,是细菌鉴定的一个重要指标。同时,由于株的G+C含量是稳定的,可作为菌株稳定性及不同株之间鉴别的参考指标。应注意的是,两株菌的G+C mol%相同和相近时,并不表示二者亲缘关系密切,原因是G+C mol%只反映了碱基组成,并未反映碱基序列的相似性,而要证明这一点,则须分析DNA-DNA的同源性。

2.4 DNA-DNA同源性(或相关性)分析法^[2]

目前细菌的基因型虽不能直接由它的DNA来解读,但可通过它们的DNA核苷酸顺序互补程度来估计不同细菌基因型之间的全部相似性,并以此推

定细菌亲缘关系。

在细菌的进化过程中,DNA的碱基序列也产生了相应的变化。一般认为 G + C mol % 相差 1%, DNA 碱基序列的共同区域就大约减少 9%, G + C mol % 差异在 10% 以上,DNA 碱基序列的共同区域就很少了。因此 DNA-DNA 杂交最适合细菌种水平的研究。通常在最复性条件下,DNA 同源性在 70% 以上属于种的水平。

Bahaka 等(1993)^[11] 对人源性长双歧杆菌、婴儿双歧杆菌和短双歧杆菌做表型和遗传性分析,结果用大量的表型试验(糖发酵)不易区分长双歧杆菌和婴儿双歧杆菌,经 DNA 杂交相关分析发现两株婴儿双歧杆菌实际上应属长双歧杆菌。用表型可将短双歧杆菌分为 5 种,但 DNA 杂交结果表明它们仍属同一个种。

2.5 细菌 DNA 限制性核酸内切酶分析法

近年来,限制性核酸内切酶分析已成功地应用于病毒的鉴定分型,并已用于细菌的分型鉴定,它实际上是对 DNA 序列分析的一种简化。限制性核酸内切酶能识别和切割双链 DNA 的特异部位,产生系列 DNA 片段,这些 DNA 片段经电泳后形成独特的 DNA 片段带谱,这些带谱就构成了各个不同双链 DNA 的特征性指纹(finger print)。比较不同细菌

DNA 的特征性“指纹”,可以了解它们的同源程度。

Mangin 等(1994)^[12] 从唾液链球菌嗜热亚种克隆出异种 23s rRNA 探针 I41,再将待测双歧杆菌在 TPYG 培养基中培养,提纯 DNA 并纯化后,分别用 3 种不同的限制性内切酶分解,电泳后,与探针进行 southern 杂交。每一个从双歧杆菌 DNA 上分解下来的片段与探针 I41 杂交,杂交后进行放射自显影,从图谱上所有菌株都能区分。

2.6 探针杂交法

分子遗传学的深入研究,更有利于 DNA 杂交技术的发展。利用克隆 DNA 可制备带标记(生物素或放射性同位素)的探针,通过与固定于滤膜的细菌染色体或质粒 DNA 杂交,可检测到特殊的核苷酸序列,从而有可能不利用纯培养技术(既费时又有可能因处理不当而失去某些菌种)而直接从生态学标本中检测某种细菌,甚至是其生物型。当前,如果已知某一特殊的微生物蛋白质的氨基酸顺序,不一定要克隆 DNA,而可直接合成聚核苷酸,制备探针。也可利用核糖体 RNA(rRNA) 基因来制备探针。^[13] 图 1 所示为以 rRNA 序列为靶的探针杂交流程图;图 2 所示为细菌 rRNA 序列分析流程图。

Frothingham 等(1993)^[14] 分析了属于 7 个种的 8 株双歧杆菌的 16s rRNA 序列,构建了一属特异性探

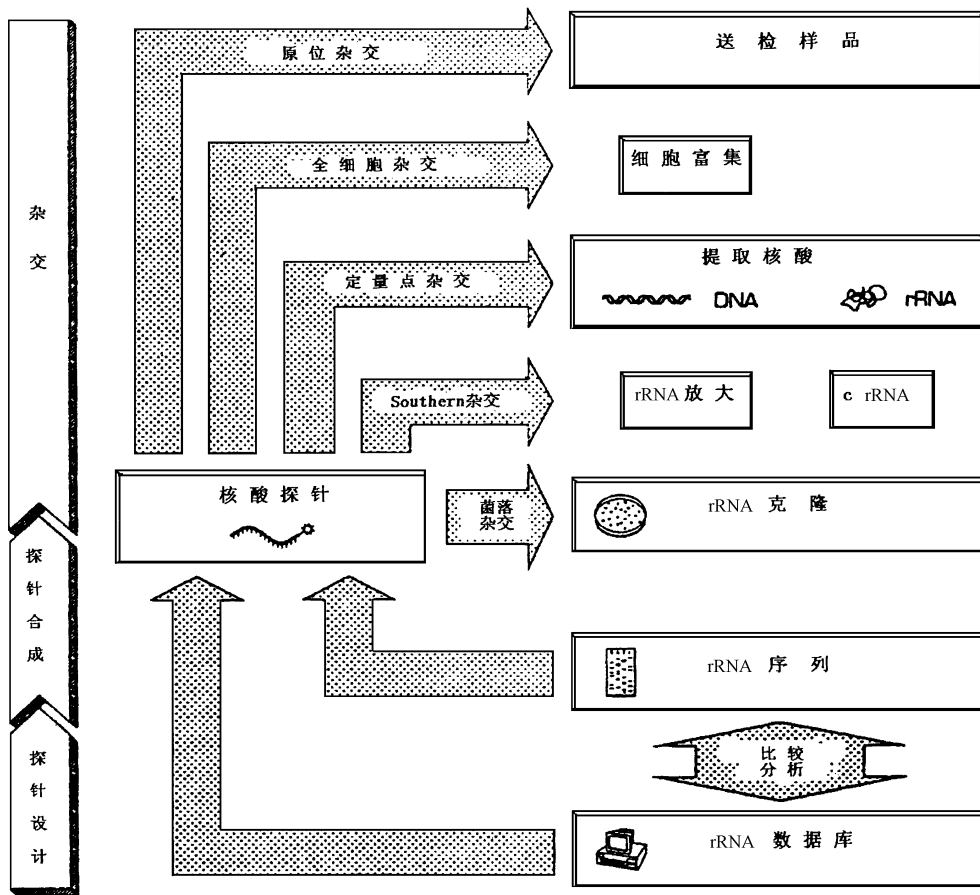


图 1 探针杂交流程图

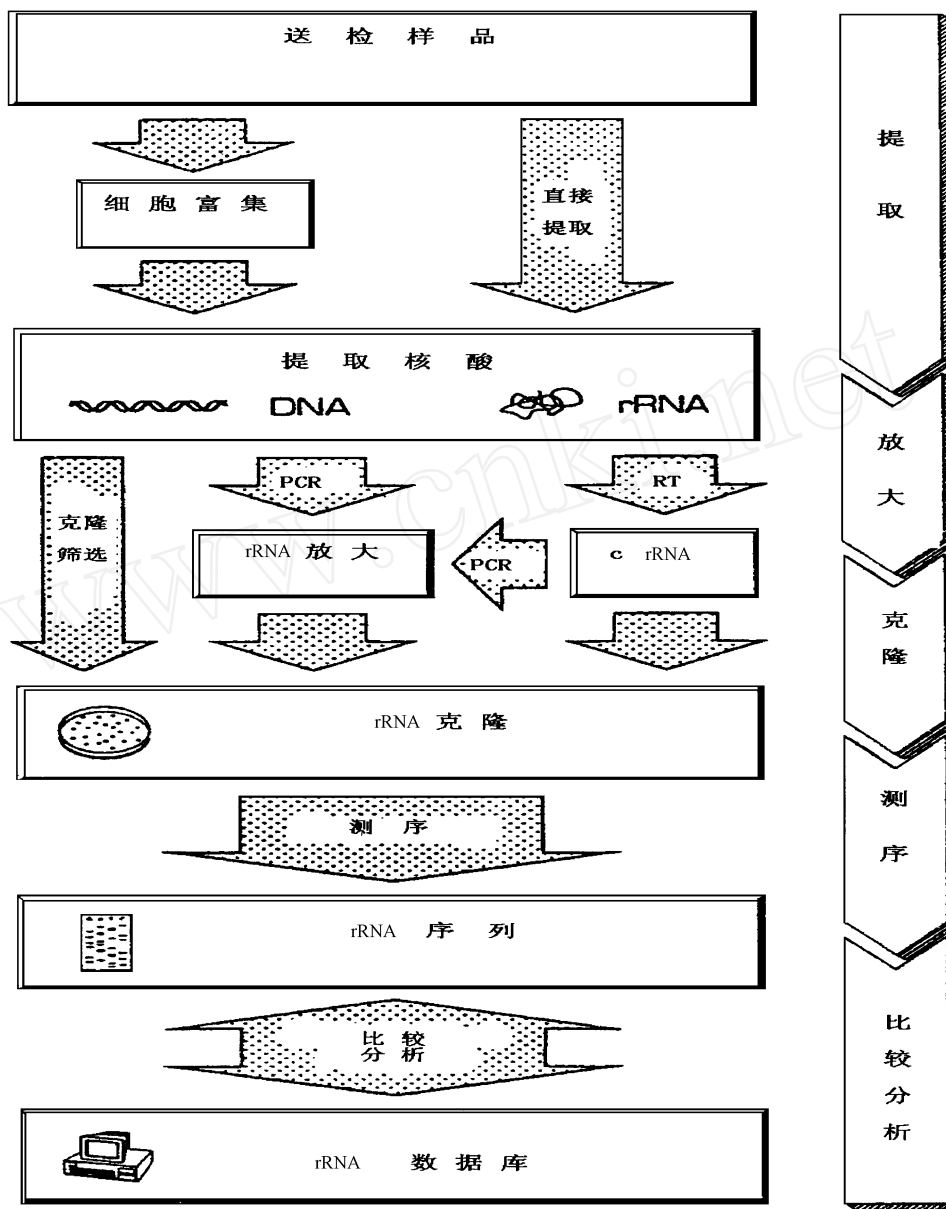


图2 rRNA 序列分析流程图

针,其序列是位于 16s rRNA 1277 ~ 1293 的一段高度保守区,有 13 种双歧杆菌该部位完全相同。青春双歧杆菌、棒状双歧杆菌和兔双歧杆菌在该部位有一个碱基差异,而双歧杆菌属外的细菌有 3 个以上碱基错配。因此该片段可作为合成双歧杆菌属特异性寡核苷酸探针的序列。

Kaufmann 等(1997 年)^[15] 在比较了双歧杆菌现有的 32 个种及相关种如阴道加德纳氏菌(*Gardnerella vaginalis*)和费氏丙酸杆菌(*Propionibacterium freudenreichii*)的 16s rRNA 基因序列后,发现其 1412 ~ 1432 位的寡核苷酸序列(21 个)在所有的双歧杆菌中相同,可作为双歧杆菌属特异的寡核苷酸片段,取名 1m3,并用菌落杂交证明了它的属特异性。Kaufmann 等还利用 1m3 进行了在食品混合培养物中双歧杆

菌的活菌计数,方法是将稀释后的食品标本涂平板,待单菌落出现后将其转移到杂交膜上和 1m3 进行菌落杂交。根据有杂交信号的菌落数进行活菌计数。

Langendijk 等(1995 年)^[16] 也根据双歧杆菌的 16s rRNA 序列设计了 3 种属特异性探针 Bif164、Bif662、Bif1278。

Yamamoto 等(1992 年)^[17] 设计出人类肠道菌群中经常检测到的 5 种双歧杆菌的特异性寡核苷酸探针,并与这 5 个种的 16s rRNA 的序列互补。用天然高分子量的 RNA 制备物作为靶子,这些寡核苷酸探针对于人肠道中这些种的菌株显示了高度的种特异性。

Itō 等(1992 年)^[18] 和 Mangin 等(1995 年)^[19] 分

别将短双歧杆菌、长双歧杆菌、青春双歧杆菌、两歧双歧杆菌和动物双歧杆菌的染色体 DNA 克隆,筛选出 5 个种特异性探针 BB22(1.8kb)、L6/45(1.75kb)、A6/17(1.85kb)、Ba7/2(1.6kb)和 an1(1.8kb)。同时, Mangin 在研究同种不同菌株的限制性多态性时,用此探针也可鉴定至株的水平,虽然每个种内只能区分个别菌株,但却揭示了存在于双歧杆菌同种不同株间的基因上的多态性。

Pot 等(1993 年)^[20]测定了嗜酸乳杆菌、格氏乳杆菌和约氏乳杆菌的 23s rRNA 基因的部分序列后,认为 3 个种的乳杆菌的 23s rRNA 基因的高度可变区的 1158~1180 碱基序列存在着差异,因此将此寡核苷酸片段用 ^{32}P 标记为探针。这些种特异性的探针通过斑点印迹杂交可特异地检测纯培养或混合培养状态的 3 种乳杆菌。

利用 Dong 等设计出的 5 个双歧杆菌种特异性引物,^[19]本文作者用地高辛标记后,作为寡核苷酸探针(表 1)与待测菌株 DNA 进行斑点印迹杂交,5 种探针均表现出较好的特异性。

表 1 本实验室所用双歧杆菌种特异性探针

探针	序列	靶位	靶菌株
PBI245	GCTTGITGGTGGTAAACGGCT	245~266	<i>B. bifidum</i>
PBR442	AGGGACAAAGCCACTTTGTGT	442~462	<i>B. breve</i>
PIN710	CTGTTACTGACGCTGAGGAGCT	710~731	<i>B. infantis</i>
PAD805	GTGGGGACCAATCCACGGIC	805~824	<i>B. adolescentis</i>
FL0965	TCCCACGGICGTAGAGATAC	965~985	<i>B. longum</i>

3 系统发育学研究—rRNA 同源性分析法^[2]

目前 16s rRNA 序列同源性分析作为细菌的系统发育和亲缘关系研究已被普遍接受和广泛应用。它揭示了现存物种间内在的亲缘关系及其演化过程,同时也为新物种的发现提供了一个有力的工具。众所周知,细菌的生物学多样性是不可估量的宝贵资源,但细菌形态简单,且有相当多数量的细菌种群目前尚不能培养或难以培养,而传统的研究又完全建立在培养的基础上,依据不少研究者的推测,目前所描述和研究的种群仅是其全部的 1%~5%。16s rRNA 基因序列同源性分析及其基因探针的应用可避开“培养”这一限制因素,去寻找、发现和探讨研究那些目前尚不可培养的新的细菌物种,并可开拓有用的基因资源服务于人类。^[1]实验表明,在细菌细胞中 RNA 碱基序列的变化比整个基因组的变化要慢得多,保守得多,这是 RNA 的功能一直没有发生变化,因此有人称它为细菌的“化石”。^[21]

PCR 方法的广泛应用,使 16s rRNA 序列分析在操作上也更加方便。它利用 16s rRNA 基因两端的

保守序列作为 PCR 的引物,通过 PCR 扩增染色体 DNA 上的 16s rRNA 基因,然后以 PCR 产物为模板直接进行序列分析,或将 PCR 产物克隆到质粒载体上,在菌体内扩增后再进行序列分析。

Bourget 等(1996)^[22]对 4 种双歧杆菌的 5 个菌株进行了 16s rRNA 序列分析,对 18 种双歧杆菌的 29 个菌株进行了 16s~23s rRNA 的基因间序列(ITS)分析,并分别构建了树图。经比较说明,16s rRNA 的序列分析有助于推断属间和属内的关系,而 16s~23s ITS 序列分析可用于划分种的界限。

表 2 列出了本文所涉及方法的鉴定水平。

表 2 乳酸菌常用鉴定方法比较

方法	属	种	株	特点
表型特征鉴定法 (培养法、生化法等)	+	+	-	操作简单,便于推广,但菌体培养较费时。
PCR 方法	+	+	+	操作简单,特异性好。
酶学方法	+	+	-	可特异性鉴定至属、种水平。
DNA 探针杂交法	+	+	+	探针的设计和试验条件的掌握是关键。
G+C mol %测定法	+	+	-	不能反映碱基序列的相似性。
RAPD 法	-	+	+	简便、快速、多态性检出率高。
DNA-DNA 杂交法	-	+	-	首先必须确定为同属细菌。
DNA 限制性内切酶分析法	-	+	+	常需同时结合其他方法,如杂交等。
rRNA 同源性分析法	+	+	-	特异性和灵敏度均很高。

综上所述,我们可以看到当前细菌分类鉴定的发展趋势,如要揭示不同类群细菌在系统发育上的自然关系,确立各类细菌在其中的位置,建立能反映自然体系的分类系统,必须深入对细菌遗传本质特性的研究。而细胞学、分子生物学和遗传学的发展为细菌的分类鉴定提供了更科学、更可靠的工具,从而为益生菌的科学应用提供指导。

参考文献:

- [1] 凌代文. 乳酸菌分类鉴定及实验方法[M]. 北京:中国轻工业出版社,1999,130.
- [2] 杨洁彬. 乳酸菌—生物学基础及应用[M]. 北京:中国轻工业出版社,1996,40.
- [3] 周方,译. 气相色谱法在微生物学和医学中的应用[M]. 北京:科学出版社,1984,7—89.
- [4] 熊德鑫. 厌氧菌代谢产物的气相色谱和离子色谱分析方法比较[J]. 中国微生态学杂志,1990,2(2):58—62.
- [5] 蓝景刚. 双歧杆菌的分子生物学研究进展[J]. 中国

微生物学杂志,1996,8(3):51—56.

- [6] Booth J, Shapiro D, Trempey J, et al. Use of molecular probes against fructose-6-phosphate phosphoketolase to enumerate Bifidobacteria [R]. Abstracts of 94th ASM General Meeting, 1994;382.
- [7] Grill J P, Crociani J, Ballongue J. Characterization of fructose-6-phosphate phosphoketolases purified from Bifidobacterium species[J]. Current Microbiol, 1995; 31:49.
- [8] Ruben G, Kok, Anthony De Waal, Frits Schut, et al. Specific detection and analysis of a probiotic Bifidobacterium strain in infant feces[J]. Appl Environ Microbiol, 1996, 62(10): 3668—3672.
- [9] Xiuzhu Dong, Gang Cheng, Wenying Jian. Simultaneous identification of five bifidobacterium species isolated from human beings using multiple PCR primers[J]. Syst Appl Microbiol, 2000, 23(3):386—390.
- [10] 郑忠辉,等. RAPD 分析快速鉴定双歧杆菌[J]. 中国微生物学杂志, 1997, 9(5): 14—17.
- [11] Bahaka D, Neut C, Khattabi A, et al. Phenotypic and genomic analysis of human strains belonging or related to bifidobacterium longum[J]. Int J Syst Bacteriol, 1993, 43(3): 565.
- [12] Irene Mangin, Nathalie Bourget, Yoram Bouhnik, et al. Identification of Bifidobacterium strains by rRNA gene restriction patterns [J]. Appl Environ Microbiol, 1994, 5: 1451—1458.
- [13] 苏文金. 分子遗传学在消化道微生态学中的应用[J]. 中国微生物学杂志, 1990, 2(4): 72—76.
- [14] Frothingham R, Duncan A J, Wilson K. H. Ribosomal DNA sequences of bifidobacteria: implications for sequence-based identification of the human colonic flora [J]. Microb Ecol Health Dis, 1993, 6:23.
- [15] Kaufmann P, Pfefferkorn A, Teubo M, et al. Identification and quantification of bifidobacterium species isolated from food with genus-specific 16s rRNA-targeted probes by colony hybridization and PCR[J]. Appl Environ Microbiol, 1997, 63(4): 1268—1273.
- [16] Petra S Langendijk, Frits Schut, Gjsbert J Jansen, et al. Quantitative fluorescence in situ hybridization of bifidobacterium spp. with genus-specific 16s rRNA-targeted probes and its application in fecal samples[J]. Appl Environ Microbiol, 1995, 61(8):3069—3075.
- [17] Takaharu Yamamoto, Masami Morotomi, Ryuichiro Tanaka. Species-specific oligonucleotide probes for five bifidobacterium species detected in human intestinal microflora[J]. Appl Environ Microbiol, 1992, 58(12):4076—4079.
- [18] Ito M, Ohno T, Tanaka R. A specific DNA probe for identification of Bifidobacterium breve[J]. Microb Ecol Health Dis, 1992, 5:185.
- [19] I Mangin, N Bourget, J M Simonet, et al. Selection of species-specific DNA probes which detect strain restriction polymorphism in four bifidobacterium species[J]. Res Microbiol, 1995, 146: 59—71.
- [20] Pot R, Hertel C, Ludwig W, et al. Identification and classification of lactobacillus acidophilus, L. gasseri, and L. johnsonii strains by SDS-PAGE and rRNA-targeted oligonucleotide probe hybridizations[J]. J Gen Microbiol, 1993, 139: 513—517.
- [21] 李蓉. 微生物分类和鉴定技术进展[M]. 北京:光明日报出版社. 1989.
- [22] Nathalie Leblond-Bourget, Herve Philippe, Irene Mangin, et al. 16s rRNA and 16s to 23s internal transcribed spacer sequence analysis reveal inter- and intra-specific Bifidobacterium phylogeny [J]. Int J Syst Bacteriology, 1996, 46(1):102—111.

[收稿日期:2001-03-27]

中图分类号:R15;Q939.11⁺7 文献标识码:E 文章编号:1004-8456(2002)01-0053-06

食用合成色素研究动态(综述)

聂晶 齐兴娟

(哈尔滨市卫生防疫站,黑龙江 哈尔滨 150010)

食品色素分为天然色素和化学合成色素两大类。天然色素来源于动物和植物,一般比较安全。但是,天然色素价格高,在食品加工、贮存过程中容易褪色和变色,其应用受到限制。19世纪合成有机染料工业的发展,为食品色素的使用提供了更经济的生产途径。由于合成色素色泽鲜艳,性质稳定,易于调色,着色力强,成本低廉,使用方便,已被广泛应

用。

近年来,为了加强对食用合成色素的管理,许多国家对食用合成色素的理化性质及安全性做了深入细致的研究,明确限定了食用合成色素的使用品种、使用范围及使用量。各种检测方法也相继问世,并日趋完善。