

荧光定量分析实验的改进

——化学计量学辅助的三维荧光法同时测定食品中的罗丹明6G和罗丹明123

文密, 贾宝硕, 柴永琪, 王童*, 刘剑波*, 吴海龙

湖南大学化学化工学院, 化学生物传感与计量学国家重点实验室, 长沙 410082

摘要: 仪器分析实验“分子荧光法测定罗丹明B的含量”存在实验过于简单、未考虑实际情况等问题。因此, 本改进实验在三维荧光扫描模式下获取样本数据, 不进行复杂预处理, 而是运用化学计量学算法解析出目标分析物的纯信号, 进而实现了染色辣椒中罗丹明6G和123的同时测定。本改进实验提高了学生全面考虑问题和创新解决问题的能力。

关键词: 罗丹明6G; 罗丹明123; 三维荧光; 化学计量学; 染色辣椒

中图分类号: G64; O6

Improvement of Fluorescence Quantitative Analysis Experiment: Simultaneous Determination of Rhodamine 6G and Rhodamine 123 in Food Using Chemometrics-Assisted Three-Dimensional Fluorescence Method

Mi Wen, Baoshuo Jia, Yongqi Chai, Tong Wang*, Jianbo Liu*, Hailong Wu

State Key Laboratory of Chemo/Biosensing and Chemometrics, College of Chemistry and Chemical Engineering, Hunan University, Changsha 410082, China.

Abstract: The existing instrument analysis experiment, “Molecular fluorescence method for the determination of rhodamine B”, is overly simplistic and does not account for real-world complexities. To address these issues, this improved experiment utilizes three-dimensional fluorescence scanning to acquire sample data. Instead of complex preprocessing steps, chemometric algorithms are applied to extract the pure signals of the target analytes, enabling the simultaneous determination of rhodamine 6G and rhodamine 123 in dyed chili. This improvement enhances students' ability to approach problems comprehensively and develop innovative solutions.

Key Words: Rhodamine 6G; Rhodamine 123; Three-dimensional fluorescence method; Chemometrics; Dyed chili

1 引言

“分子荧光法测定罗丹明B的含量”是面向化学专业本科生的一个经典仪器分析实验^[1-3]。实验过程中首先确定物质的最佳激发和发射波长, 利用在低浓度下物质发出的荧光强度与物质浓度成正比

收稿: 2024-05-22; 录用: 2024-09-18; 网络发表: 2025-02-12

*通讯作者, Emails: wangtong@hnu.edu.cn (王童); liujianbo@hnu.edu.cn (刘剑波)

基金资助: 2024年湖南省普通本科高校教学改革研究项目(202401000432); 国家自然科学基金(22204049); 湖南省教育厅科学研究重点项目(23A0028)

的基本原理,通过建立单变量校正曲线,预测待测样中物质的含量,旨在使学生了解荧光光谱法的原理,掌握荧光分光光度计的使用并熟悉其结构。

新时代本科教育注重对学生知识、能力和素养的综合培养,然而在高标准教学目标下,我们发现该实验存在一些待改进的问题:(1)分析对象过于理想化,未能结合实际应用:该实验基于罗丹明B标准溶液建立标准曲线,“未知样”也为人工配制的罗丹明B纯溶液,而实际分析(如食品、环境、化妆品等)中,往往需要在复杂体系存在未知干扰情况下测定目标成分;(2)经典荧光法用于分析复杂对象本身具有局限性:如果使用基于单变量校正的经典荧光分析方法来分析复杂对象,进而实现对目标分析物的精准定量,那就需要获取分析物的纯分析信号,否则在干扰信号共存时易得假阳性结果,因此在分析实际体系时,往往需要结合繁琐的预处理步骤,如分离、纯化、掩蔽等,使得实验时间和成本增加,不符合当前绿色分析化学与智能传感的发展趋势;(3)实验时长偏短,内容相对枯燥:原实验时长约2小时,实验操作只涉及罗丹明B校正集的配制和荧光数据的获取,步骤过于简单,学生难以从实际背景下了解荧光定量分析法的价值,容易形成“按配方炒菜”的实验模式,同时没有前沿方法引入,不利于新时代下本科生人才的培养。

因此,我们从《化学类专业本科教学质量国家标准》^[4]的要求出发,将上述实验改进为“化学计量学辅助三维荧光法同时测定食品中的罗丹明6G和罗丹明123”。该实验选择“增色辣椒粉”作为实际研究对象,立足国人广泛关注的食品安全问题。罗丹明染料及其转化产物具有致癌作用,已被禁止在食品工业中使用,然而仍有报道指出市售辣椒有非法添加罗丹明染料以增强色泽的现象^[5,6],因此,非法添加染料的筛查和定量具有较强的实际意义。本实验中,学生则化身为食品检验员对“可疑样本”进行分析,引入前沿的化学计量学“二阶校正方法”^[7],用于分析三维荧光数据,其特点是可以直接实现复杂体系未知干扰共存下多种目标分析物的定量分析,分析过程中通过“数学分离”获取目标分析物的纯信号,而不是使用分离、纯化、掩蔽等物理/化学预处理手段,同时将实验从“无干扰理想情况下单个成分的定量测定”扩展到“实际体系未知干扰存在下多个成分的同时定量测定”。

该改进实验用于本科教学具有明显优势:(1)分析方法先进且契合“4S+3A”目标,即具有Sensitivity, Selectivity, Speediness, Simplesness, Accuracy, Automation和Application(灵敏度、选择性、高速度、简单、精确度、自动化、应用性);(2)方法通用性更强,能解决贴合实际情况下问题,因为荧光分析在实际情况下往往伴随着未知干扰信号和背景信号的存在;(3)易于实施和推广,化学计量学算法开源,导入数据即实现数据处理,算法解析时间仅需几秒;(4)成本低廉,仪器成本几乎无增加,只需要在三维荧光扫描模式下获取数据即可;(5)绿色环保,无需复杂预处理,通过数学分离即可移除干扰;(6)安全,溶剂为纯水,全过程不涉及危险品;(7)教学时长合理且内容丰富,时长为4学时。

通过该实验的教学,可以很好地从知识、能力、素质三个维度培养学生。对应于《化学类专业本科教学质量国家标准》要求,在知识层面,学生可了解荧光法的原理,熟悉荧光分光光度计的结构和使用,加深对荧光数据结构特点的理解,了解化学计量学前沿知识及应用;在能力层面,学生可掌握专业所需的化学、数学、计算机等交叉知识,提高学生全面考虑问题和创新解决实际问题的能力;在素质层面,增强学生环保意识、安全意识和可持续发展理念,树立完整、准确的“量”的概念,同时增强学生的社会责任感和职业使命感。

2 实验部分

2.1 实验原理

2.1.1 三线性成分模型

在三维荧光扫描中,单个样本产生一个 $I \times J$ 二维数据阵(其中 I 表示激发波长点数, J 是发射波长点数),将多个样本沿样本 K 的方向进行堆叠就形成一个 $\underline{\mathbf{X}}_{I \times J \times K}$ 的三维数据阵,其中 K 是样本总数,包括校正样本和预测样本,三线性成分模型的图形表述见图1。激发-发射-样本三维数阵是严格符合三线性数据结构的,因此 $\underline{\mathbf{X}}_{I \times J \times K}$ 中的每个元素 x_{ijk} 可记为:

$$x_{ijk} = \sum_{n=1}^N a_{in} b_{jn} c_{kn} + e_{ijk} \quad (i=1, \dots, I; j=1, \dots, J; k=1, \dots, K) \quad (1)$$

其中, x_{ijk} 为一定的激发 i 和发射 j 下第 k 个样本的响应强度。 a_{in} 指解析得到的归一化激发光谱矩阵 $\mathbf{A}(I \times N)$ 的元素; b_{jn} 表示归一化发射光谱矩阵 $\mathbf{B}(J \times N)$ 中的元素; c_{kn} 表示相对浓度矩阵 $\mathbf{C}(K \times N)$ 中的元素。 N 表示感兴趣分析物、已知和未知干扰等基质中含有的所有荧光响应信号的总因子数。 e_{ijk} 表示与 $\mathbf{X}_{I \times J \times K}$ 相同大小的残差阵 $\mathbf{E}_{I \times J \times K}$ 的元素。

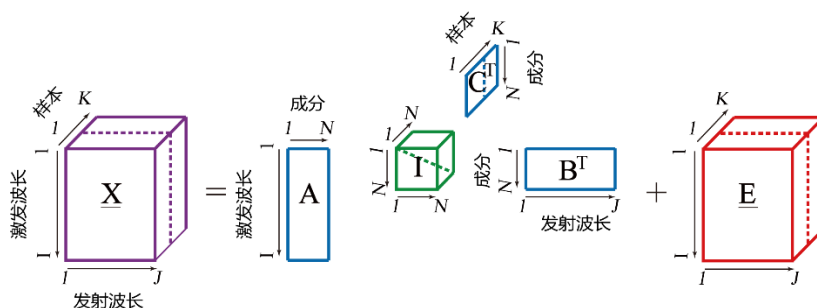


图1 三线性成分模型的图形表述

2.1.2 交替三线性分解算法(ATLD)

ATLD算法^[8]是分解三线性成分模型最有效且最常用的方法之一, 可以通过解析三线性三维数据阵获得具有清晰物理/化学意义的解, 这也意味着能通过“数学分离”从复杂混合信号中提取出各成分的纯信号, 因此可实现感兴趣分析物的同时精准定量, 而不会受预测样中未知干扰模式变化的影响。该算法具有很快收敛速度, 很容易实现智能化和自动化。同时对过多的组分数不敏感的优势, 所以只需所取的组分数大于或等于实际组分数, 该算法就可以快速获得可靠精准的结果。根据三线性三维数据阵的内在循环性, 可分别沿三个方向对三维数据阵切片, 得到的三个目标函数如等式(2)–(4)所示:

$$\sigma(\mathbf{A}) = \sum_{i=1}^I \left\| \mathbf{X}_{i..} - \mathbf{B} \text{diag}(\mathbf{a}_{(i)}) \mathbf{C}^T \right\|_F^2 \quad (2)$$

$$\sigma(\mathbf{B}) = \sum_{j=1}^J \left\| \mathbf{X}_{.j.} - \mathbf{C} \text{diag}(\mathbf{b}_{(j)}) \mathbf{A}^T \right\|_F^2 \quad (3)$$

$$\sigma(\mathbf{C}) = \sum_{k=1}^K \left\| \mathbf{X}_{...k} - \mathbf{A} \text{diag}(\mathbf{c}_{(k)}) \mathbf{B}^T \right\|_F^2 \quad (4)$$

其中, a_{in} 指解析得到的归一化激发光谱矩阵 $\mathbf{A}(I \times N)$ 的元素; b_{jn} 表示归一化发射光谱矩阵 $\mathbf{B}(J \times N)$ 中的元素; c_{kn} 表示相对浓度矩阵 $\mathbf{C}(K \times N)$ 中的元素。根据交替最小二乘原理, 最小化上述目标损失函数, 可得到 \mathbf{A} 、 \mathbf{B} 和 \mathbf{C} 的解如等式(5)–(7)所示。其中 diagm 表示提取括号中矩阵的对角元素进而变为列矢量。

$$\mathbf{a}_{(i)}^T = \text{diagm}(\mathbf{B}^+ \mathbf{X}_{i..} (\mathbf{C}^T)^+), \quad (i=1, 2, 3, \dots, I) \quad (5)$$

$$\mathbf{b}_{(j)}^T = \text{diagm}(\mathbf{C}^+ \mathbf{X}_{.j.} (\mathbf{A}^T)^+), \quad (j=1, 2, 3, \dots, J) \quad (6)$$

$$\mathbf{c}_{(k)}^T = \text{diagm}(\mathbf{A}^+ \mathbf{X}_{...k} (\mathbf{B}^T)^+), \quad (k=1, 2, 3, \dots, K) \quad (7)$$

2.2 试剂或材料

标准品罗丹明6G ($\geq 98\%$)、罗丹明123 ($\geq 98\%$)购买于Sigma-Aldrich公司(USA)、由Milli-Q Gradient A10系统(Millipore, MA, USA)制得的超纯水(H_2O , $18.25 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$)、人工染色干辣椒粉(该人工染色辣椒粉可由实验员提前制备, 将购置的干辣椒打碎成粉末, 取 1 g 辣椒粉滴加 $4 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 罗丹

明6G溶液0.22 mL, 滴加6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 罗丹明123溶液0.35 mL, 之后混匀作为一份实际样, 其中罗丹明6G和罗丹明123的浓度约为880 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和2100 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。所有溶液现配现用。

罗丹明6G和罗丹明123的分子结构如图2所示, 两种罗丹明分子均具有较大的共轭体系, 从而具有强荧光特性。

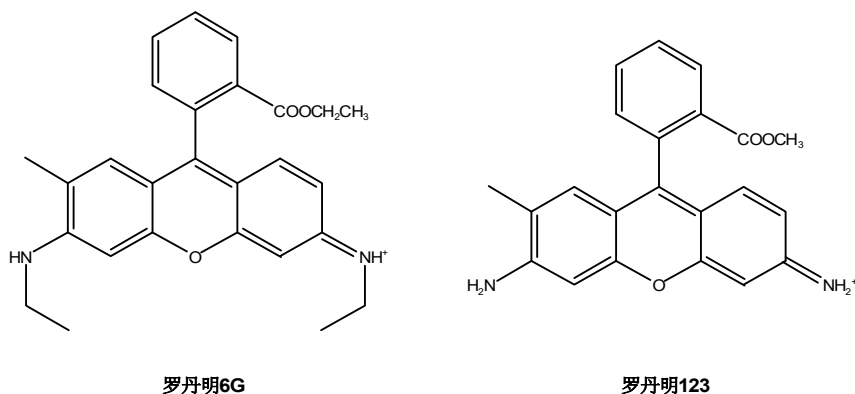


图2 罗丹明6G和罗丹明123的分子结构

2.3 实验仪器和表征方法

2.3.1 实验仪器

电子仪器见表1。玻璃仪器和耗材如下:

10 mL棕色容量瓶19个, 500 mL容量瓶2个, 250 mL烧杯2个, 50 mL烧杯1个, 25 mL烧杯3个, 胶头滴管1个, 玻璃棒2根, 针式过滤器3个, 1000 μL 移液枪1支。

表1 本实验所用到的电子仪器

电子仪器	型号/规格	制造商
荧光分光光度计	F-7000	日本日立公司
数控超声波清洗器	KQ5200DE	昆山市超声仪器有限公司
离心机	TDZ4K	湖南湘仪实验室仪器开发有限公司
粉碎机	MFJ-W317	北京利仁科技股份有限公司
电子天平(万分之一)	BT125D	德国赛多利斯公司

2.3.2 表征方法

使用荧光分光光度计进行数据获取, 采用三维荧光扫描模式。参数设置如下: 激发波长扫描范围为350–600 nm, 步长为5 nm; 发射波长扫描范围为450–600 nm, 步长为5 nm; 扫描速度为30000 $\text{nm}\cdot\text{min}^{-1}$; 电压为700 V; 激发和发射狭缝宽度均为5 nm。

2.4 实验步骤

整个实验分为三个阶段, 分别为样品的配制(2学时)、各样本三维荧光光谱的获取(1学时)、数据处理及定量分析(1学时)。实验共计4学时, 为本科实验的标准时长。

2.4.1 样品的配制

(1) 罗丹明6G和罗丹明123储备液和中间液的配制。

分别精确称取0.4 g罗丹明6G和0.6 g罗丹明123, 各置于250 mL烧杯中加适量超纯水, 并用玻璃棒搅拌溶解, 转移至500 mL棕色容量瓶, 用超纯水定容备用(可实验员提前准备, 全班级使用)。取适量溶液稀释, 配制成约40 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的罗丹明6G储备液和60 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的罗丹明123储备液; 将上述溶

液分别用超纯水稀释100倍, 准确配制浓度为 $400 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的罗丹明6G中间液和 $600 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的罗丹明123中间液。

(2) 单标溶液和空白溶液的配制

分别将罗丹明6G的罗丹明123中间液稀释10倍, 配制成 $40 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的罗丹明6G单标溶液和 $60 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的罗丹明123单标溶液, 标记为R6G和R123。准备3个10 mL棕色容量瓶, 直接超纯水定容至刻度, 配制3个空白溶液, 标记为B01-B03。

(3) 校正样本的配制

按照表2的浓度设计(采用均匀设计, 可以有效避免数据分析中的共线性问题), 分别用移液枪移取不同体积的罗丹明6G和罗丹明123中间液于10 mL容量瓶中混合, 用超纯水定容, 配制7个校正样本, 标记为C01-C07。

表2 各校正样本中罗丹明6G和123的浓度以及配制时所加入的中间液体积

样本号	罗丹明6G的	罗丹明123的	需加入 $400 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 罗丹明6G的	需加入 $600 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 罗丹明123的
	浓度/ $(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	浓度/ $(\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1})$	体积/ μL	体积/ μL
C01	4	42	100	700
C02	10	15	250	250
C03	16	60	400	1000
C04	22	33	550	550
C05	28	6	700	100
C06	34	51	850	850
C07	40	24	1000	400

(4) 待测样的配制

准确称取1 g染色辣椒粉(具体见2.2部分, 其中罗丹明6G和罗丹明123的浓度约为 $880 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $2100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)于50 mL烧杯中, 加入20 mL超纯水, 超声10 min, 之后将溶液转移至2个离心管中, 重量平衡后在 $4000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 转速下离心10 min。用针式过滤器吸取离心上清液并进行过滤, 取2.0 mL滤液加入10 mL容量瓶中, 用超纯水定容, 该过程重复3次, 得到用于平行测定的3个待测样, 记为P01-P03。

2.4.2 各样本三维荧光光谱的获取

日立F-7000荧光分光光度计按章节2.3中数据设置好参数, 在三维荧光扫描模式下依次获取3个空白溶液样本B01-B03、7个校正样本C01-C07、3个待测样P01-P03、单标溶液样本R6G和R123的三维荧光光谱, 其中R6G和R123的三维荧光光谱用于反映罗丹明6G和罗丹明123的真实激发和发射光谱, 将数据用文本文件格式(.txt)保存, 文件名为各样本号。

2.4.3 数据处理及定量分析

(1) 数据的导入

将所有样本的文本文件格式数据和MATLAB本实验提供的代码脚本放入到文件夹中。通过“txtread7000”脚本, 并将数据组织成MATLAB可处理的三维数据阵形式, 其尺寸为 $51 \times 31 \times 10$ (激发波长点数 \times 发射波长点数 \times 样本数)。

(2) 拉曼散射和瑞利散射的扣除

分别将三维数据阵中每个样本的矩阵数据减去三个空白溶液样本数据的平均值, 一定程度上减轻各样本中拉曼散射的影响; 之后使用“eemscat”脚本实施“插值法”^[9], 扣除宽度为 $\pm 15 \text{ nm}$ 的瑞利散射, 并进行插值拟合, 得到具有三线性结构的三维数据阵, 以便于后续交替三线性分解(ATLD)

算法解析。

(3) “数学分离”提取出各样本中罗丹明6G和罗丹明123的纯信号

选择模型的组分数参数默认为3(代表2个目标分析物成分和1个未知干扰成分)，之后使用ATLD算法脚本进行三维数据阵解析，可达到“数学分离”的效果，将罗丹明6G、罗丹明123和未知干扰的混合信号分离开来。最后通过算法获得A、B、C三个矩阵，分别记录了各成分的激发光谱图、发射光谱图和相对浓度图。

数据导入后，也可以使用“treat”脚本，一次完成数据组织、散射扣除、算法解析可直接获得“数学分离”结果。可根据课时要求细化或者简化数据处理过程。相关算法和脚本可根据实际需要向通讯联系人获取。

(4) 染色辣椒中罗丹明6G和罗丹明123的定量分析

将单标的激发光谱和发射光谱图与解析所得的各成分激发光谱图和发射光谱图进行比对，验证算法解析结果的准确性；根据校正集中解析得到的罗丹明6G和罗丹明123的相对浓度和已知真实浓度建立标准曲线，对3个待测样中的罗丹明6G和罗丹明123进行精准定量。

3 实验结果与分析

3.1 三维荧光图谱分析

分别对罗丹明6G ($40 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)和罗丹明123($60 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)的单标溶液进行三维荧光扫描，在扣除掉散射干扰后，其数据如图3(a)和(b)所示。可以看出，罗丹明6G的最大激发为530 nm，最大发射波长为550 nm；而罗丹明123的最大激发波长为500 nm，最大发射波长为520 nm。此外，两者的荧光光谱谱带比较宽，存在严重重叠，这也意味着辣椒粉中如果同时非法添加两者进行增色，传统的荧光法将难以对它们进行定性定量分析。图3(c)为待测增色辣椒复杂样本的三维荧光图，可以发现复杂辣椒样本除了存在可疑的罗丹明染料以外，还存在一个较强的荧光团，该荧光团应该为辣椒本身的荧光成分(如辣椒素和二氢辣椒素等)响应所致，其最大激发波长和最大发射波长分别为370 nm和450 nm，这给罗丹明的筛查和定量增加了难度。

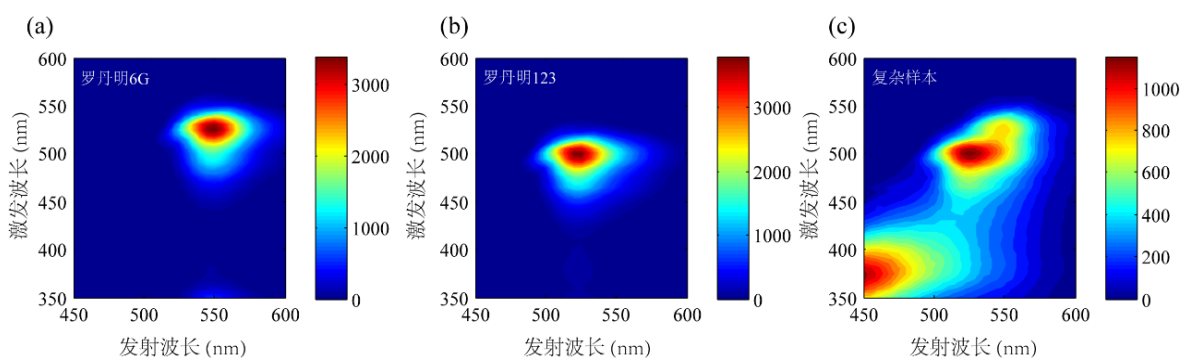


图3 三维荧光图谱

(a) $40 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 罗丹明6G; (b) $60 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 罗丹明123; (c) 待测增色辣椒复杂样本

3.2 基于化学计量学“数学分离”的各样本成分解析

将7个校正样本C01–C07、3个待测样本P01–P03的三维荧光光谱数据按照章节2.4.3的步骤导入到MATLAB软件中分析，通过ATLD算法处理过后，可以获得记录了各成分纯信号的归一化激发光谱矩阵A，归一化发射光谱矩阵B和相对浓度矩阵C，可据其绘图得到图4，再由图4(c)的相对浓度信息建立标准曲线，如图5。从图4中可以看出，虽然辣椒中存在的未知干扰物与两种罗丹明光谱重叠，且罗丹明6G和罗丹明123光谱之间也存在重叠，但是通过ATLD算法分解可以直接获得三者的纯光谱

信号以及在各样本中的相对浓度信息，只需要一组校正集就可以同时获得辣椒样中罗丹明6G和罗丹明123的准确性定量结果。

将通过单标获得的真实光谱轮廓图(虚线)与解析出的光谱轮廓图(实线)进行比较，从图4(a)和(b)中可以看出，两者几乎完全重叠；从ATLD解析出的图4(c)可以看出，罗丹明6G和罗丹明123的相对浓度值在校正样本C01–C07中变化趋势与表2所设相同，说明算法解析正确，可据此建立校正曲线。同时辣椒中的未知干扰成分信号也被成功解析出来，在P01–P03中具有一定响应强度值，而其强度在C01–C07中接近0，说明该成分为辣椒中的内源荧光物质的组合信号。

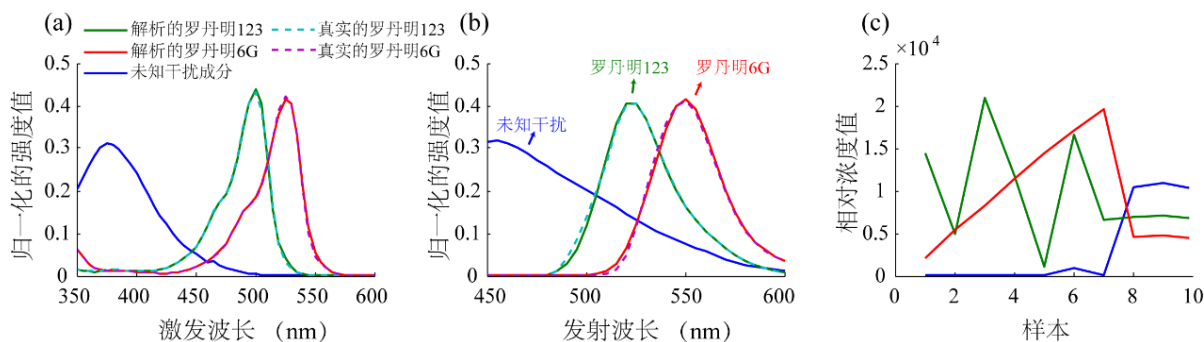


图4 利用ATLD算法解析得到的罗丹明6G和罗丹明123的归一化激发光谱图(a)、归一化发射光谱图(b)以及相对浓度图(c)

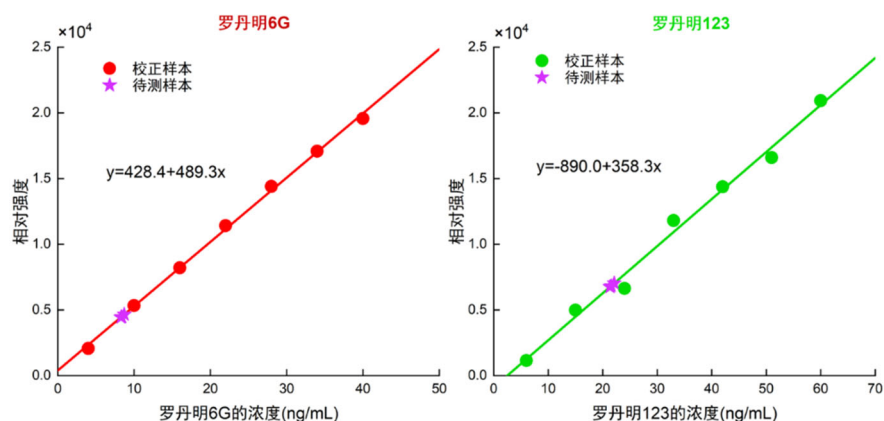


图5 化学计量学辅助三维荧光法检测罗丹明6G和罗丹明123的线性曲线

3.3 线性回归方程及定量结果考察

将校正集中罗丹明6G和罗丹明123的相对浓度信息分别对其实际浓度进行作图，结果如图5所示，可获得相应的线性回归方程。此外，可对本方法的决定系数、检测限和定量限进行考察，所得结果均记录于表3。本实验中根据空白样预测结果的标准偏差的3倍(3σ)来计算检测限，标准偏差的10倍(10σ)来计算定量限，并以 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 辣椒粉的单位进行换算。

表3 方法定量结果考察及待测样中目标分析物的含量

检测对象	回归方程 ^a	决定系数 r^2	检测限/ $(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$	定量限/ $(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$	待测样中含量/ $(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$
罗丹明6G	$y = 428.4 + 489.3x$	0.9983	68.8	229	847 ± 26
罗丹明123	$y = -890.0 + 358.3x$	0.9900	118	394	2179 ± 45

^a回归方程中 x 为分析物的浓度，单位为 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ； y 为ATLD算法解析所得的相对强度值

最后,对可疑增色辣椒粉中(样本P01-P03)的罗丹明6G和罗丹明123进行检测,在置信度为95%时,该样本中罗丹明6G的含量为 $847 \pm 26 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,罗丹明123的含量为 $2179 \pm 45 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

4 结语

本实验对传统本科教学中的荧光定量分析方法进行了改进。原实验“分子荧光法测定罗丹明B的含量”是通过配置一系列不同浓度罗丹明B的纯溶液来建立标准曲线,然后来对“未知样”(人工配置的罗丹明B纯溶液)进行定量。改进后的实验“化学计量学辅助三维荧光法同时测定食品中的罗丹明6G和罗丹明123”与原实验相比,并未增加额外的实验仪器,仅将荧光分光光度计的扫描模式变更为“三维荧光扫描”,再引入化学计量学二阶校正算法来处理获取的样本数据,通过“数学分离”而不是物理/化学预处理的手段,从复杂混合光谱信号中提取出了目标分析物的纯信号,成功对增色辣椒粉中的罗丹明6G和罗丹明123进行了精准定性定量检测。

改进后的实验具有以下特点:

(1) 实现学科交叉融合。

改进后的实验引入了化学计量学的前沿知识,在解决化学分析问题的同时,巧妙地借助了数学、计算机的知识,使用“数学分离”的方法代替传统的物理/化学预处理手段,将“分析增色辣椒粉中罗丹明的含量”这一问题简化,能够引导学生从新的角度来思考和解决生活中的化学问题,激发学生对其他学科知识的学习兴趣。

(2) 分析方法具有明显“4S+3A”的特点。

实验检测对象为罗丹明6G和罗丹明123,其共轭体系决定了它们会具有明显的荧光特点(见本文2.2与3.1),使用荧光分光光度计三维荧光扫描模式对其进行检测,得到了良好的定性定量效果。罗丹明6G和罗丹明的检测限分别为 $0.688 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ 、 $1.18 \text{ ng}\cdot\text{mL}^{-1}$,灵敏度很高(Sensitivity),同时不会受到辣椒粉本身荧光的干扰(Selectivity),实验中还没有纯化或掩蔽等预处理过程(Simpleness),扫描一个样本数据只需1-2 min,十分高效(Speediness)。此外,改进后的实验聚焦于实际问题,有很强的应用性(Application),数据处理过程使用已编好的脚本,保证一定的自动化(Automation),检测结果与加标样本的罗丹明含量高度吻合(Accuracy)。

(3) 立足实际,安全性高。

我国明确规定不允许将罗丹明B用作食品添加剂或食品染色剂,罗丹明6G对人体有害,亦被明令禁止作为食品添加剂,然而许多新闻报道,罗丹明系列染料仍可能被非法添加到食品中^[10-14]。本实验选择增色辣椒粉作为分析对象,聚焦食品安全,能够引导学生关心民生问题,达到学以致用目的。使用光谱法对罗丹明进行检测时,通常使用甲醇与水的混合溶液来溶解罗丹明^[11],本实验通过优化条件,将溶剂更换为超纯水,契合了绿色化学的理念,让实验安全性更高。

参 考 文 献

- [1] 陈伟,汤胜,喻德忠. 分析化学实验. 北京: 化学工业出版社, 2020.
- [2] 柯以侃,董慧茹. 分析化学手册. 北京: 化学工业出版社, 1998.
- [3] 张晓凤,柏俊杰,曹坤,杨波. 现代仪器分析实验. 重庆: 重庆大学出版社, 2021.
- [4] 2013-2017年教育部高等学校化类专业指导委员会. 化学类专业本科教学质量国家标准. 北京: 高等教育出版社, 2018.
- [5] 金龙柏,王玉立. 现代食品, 2017, No. 23, 90.
- [6] 谢君红,潘旭,付晓陆,冯辉,姚祖江. 食品与发酵科技, 2014, 50 (4), 64.
- [7] Wu, H. L.; Wang, T.; Yu, R. Q. *Trends Anal. Chem.* 2020, 130, 115954.
- [8] Wu, H. L.; Shibukawa, M.; Oguma, K. *J. Chemom.* 1998, 12, 1.
- [9] Bahram, M.; Bro, R.; Stedmon, C.; Afkhami, A. *J. Chemom.* 2006, 20 (3-4), 99.

- [10] Li, Y. Y.; Li, H. W.; Wang, T. C.; Liu, G.; Wang, G.; Liu, M. M.; Pan, L.; He, J.; Li, K. *Dyes Pigments*. **2023**, *219*, 111602.
- [11] Chang, Y. Y.; Wu, H. L.; Fang, H.; Wang, T.; Liu, Z.; Ouyang, Y. Z.; Ding, Y. J.; Yu, R. Q. *Spectrochim. Acta A* **2018**, *11*, 141.
- [12] Sun, Y.; Li, W.; Zhao, L.; Li, F.; Xie, Y.; Yao, W.; Liu, W.; Lin, Z. *Food Chem.* **2021**, *357*, 129741.
- [13] Du, R.; Zhang, Y.; Bian, Y.; Yang, C.; Feng, X.; He, Z. *Food Chem.* **2024**, *459*, 140384.
- [14] Chin, Z. X.; Chua, S. L.; Ang, Y. L.; Wee, S.; Lee, K. K. M.; Wu, Y.; Chan, J. S. H. *Food Addit. Contam. B* **2024**, *17*, 1.