

使用热裂解和 GC/MSD 定量分析环境样品中的微塑料

作者

George Dierkes,
Susanne Becher,
Heike Schumacher,
Corinna Földi
德国联邦水文研究所,
德国科布伦茨

Tim Lauschke,
Thomas Ternes
德国科布伦茨-兰道大学,
综合自然科学研究所

Joerg Reiner
安捷伦科技有限公司

摘要

环境样品中微塑料的定量分析正受到越来越多的关注。本应用简报介绍了一种利用加压液体萃取 (PLE) 配合热裂解气相色谱-质谱 (pyr-GC/MS) 的稳定分析方法, 可通过 Agilent 5977B GC/MSD、Agilent 7890B GC 和 Agilent MassHunter 工作站软件对环境基质中的低浓度聚乙烯 (PE)、聚丙烯 (PP) 和聚苯乙烯 (PS) 等微塑料进行定量分析。对实际环境样品的线性、定量限 (LOQs) 和重现性进行了评估。GC/MSD 解决了过往方法检测限较高的问题, 对 PE、PP 和 PS 微塑料的定量可低至 0.005 mg/g。在分析 0.005–1 mg/g 的校准样品时获得了出色的线性 ($R^2 > 0.97$)。加标样品和环境样品的相对标准偏差 (RSDs) 均低于 10%, 证明了系统出色的重现性和可靠性。

前言

微塑料通常指长度小于 5 mm 的塑料颗粒和碎片。这些颗粒从多种来源进入环境，并持续存在数百年或更长时间，从而增加了生物体摄入这些颗粒并在体内积累的风险。因此，人们越来越关注土壤、水和有机物等环境样品中微塑料的定量分析。

由于微塑料的分子量很高，且在大多数溶剂中溶解性较差，因此使用传统的 GC/MS 或 LC-串联 MS 方法定量分析环境样品中的微塑料一直面临着挑战。红外光谱 (IR) 等光谱技术可用于测量微塑料，并提供颗粒数量、化学性质以及尺寸和面积分布等信息。作为对这些技术的补充，热萃取与 GC/MS 联用可提供对监管和监测而言至关重要的质量浓度信息^[1,2]。尽管热裂解气相色谱-质谱 (pyr-GC/MS) 方法展现出了应用前景，但其以往存在检测限较高、受基质相关的背景干扰以及样品中微塑料颗粒分布不均匀等问题。

Dierkes 等人提出，可靠地测定环境样品中的微塑料所需的定量限应低于 1 mg/g^[3]。为了克服分析限制，他们开发了一种利用加压液体萃取 (PLE) 结合 pyr-GC/MS 的稳定分析方法，可定量分析土壤和污水污泥基质等复杂沉积物中低浓度的微塑料^[3]。作者设计的方法可对常见的微塑料，例如聚乙烯 (PE)、聚丙烯 (PP) 和聚苯乙烯 (PS) 进行相对高通量的分析。本应用

简报展示了使用 Agilent 5977B GC/MSD、Agilent 7890B GC 和 Agilent MassHunter 工作站软件执行该方法的适用性。我们还特别评估了 GC/MSD 的线性、定量限 (LOQs)、重现性以及在实际环境样品中 PE、PP 和 PS 的检测和定量性能。除这类丰度较高的微塑料之外，这项技术还可以分析其他塑料类型，例如尼龙聚合物、聚氨酯 (PUR)、聚对苯二甲酸乙二醇酯 (PET)、乙烯-醋酸乙烯酯 (EVA)、聚氯乙烯 (PVC)、丙烯腈-丁二烯-苯乙烯 (ABS) 和碳氟聚合物。

实验部分

标样和样品前处理

由于 PE 和 PP 在大多数溶剂中的溶解性较差，因此几乎无法通过稀释储备溶液的方法来制备校准溶液。此外，直接称量聚合物也不适用，因为称量极少量标准品配制低浓度校准样品时，容易产生称量误差。所以，我们使用惰性基质（煅烧海砂）连续稀释储备混合物来制备校准样品。将 PE、PS (PSS 聚合物) 和 PP (Sigma-Aldrich) 在低温研磨机中研磨，然后各取 250 mg 与煅烧海砂混合，以制得 10 g 储备混合物。然后将混合物在行星式研磨机中均质化 20 min。将 1–2 g 储备混合物与砂子混合以进行连续稀释，获得 0.005–10 mg/g 范围内的各个聚合物校准浓度。在每个稀释步骤后将混合物均质化。

进行 PLE 时，取 1 g 样品放入 10 mL 不锈钢萃取室中，并使用溶剂萃取仪器完成萃取。使用甲醇进行预萃取，以减少基质效应。使用四氢呋喃在 185 °C 和 100 bar 下萃取微塑料。将提取物收集至含 200 mg 煅烧硅胶的 60 mL 样品瓶中。萃取完成后，加入 10 µL 聚苯乙烯-d5 (270 µg/mL，溶于二氯甲烷，购自 Polymer Source) 作为内标。然后将溶剂蒸发，并使用硅胶捕获沉淀的聚合物。用二氯甲烷冲洗粘附在样品瓶上的微塑料，至少三次。然后将硅胶均质化 5 min。

Dierkes 等人发表的论文中提供了有关标样制备和样品前处理步骤的详细信息。

校准、方法验证（粒径实验除外）、空白（仅包含沙子）和环境样品均使用相同步骤进行萃取。

热裂解 GC/MS 分析和仪器

所有样品的热裂解 GC/MS 分析均使用 EGA/PY-3030D Multi-Shot 热裂解仪和 AS-1020E Auto-Shot 进样器 (Frontier Laboratories) 搭配 7890B 气相色谱仪和 5977B GC/MSD。分析每个样品时，称取 20 mg 均质硅胶置于 80 µL 热裂解杯中 (Eco-Cup LF, Frontier Laboratories)，并在 600 °C 下进行热裂解。

7890B 气相色谱仪配备 30 m × 0.25 mm 内径，0.25 µm 膜厚的色谱柱，固定相为 (5% 苯基)-甲基聚硅氧烷（例如 HP-5ms UI，19091S-433UI）。安捷伦惰性 GC/MS 接

口流路设计用于提升对低浓度分析物的分析性能，扩展定量和检测范围。5977B GC/MSD 配备 Extractor EI 离子源，并在选择离子监测 (SIM) 模式下运行，以最大程度地提高灵敏度。Extractor EI 离子源可最大程度增加离子源产生并传输至四极杆质量分析器的离子数量。GC/MS 的运行时间为 29 min。表 1 和表 2 汇总了运行方法时采用的 GC/MS 系统配置和参数。

表 1. Agilent 7890B 气相色谱参数

参数	值
进样口	分流/不分流 (SSL)
模式	分流
分流比	20:1
总流速	28.2 mL/min
载气	氦气
进样口衬管	内径 4 mm，分流，带玻璃毛
进样口衬管部件号	5183-4711
进样口温度	320 °C
柱温箱	
初始柱温箱温度	40 °C
初始柱温箱温度保持时间	2 min
升温速率 1	20 °C/min
最终温度 1	320 °C
最终温度保持时间 1	13 min
总运行时间	29 min
色谱柱	
类型	5%-苯基-甲基聚硅氧烷固定相
长度	30 m
直径	0.25 mm
膜厚度	0.25 µm
控制模式	恒流
流速	1.2 mL/min
进样口连接	分流/不分流进样口 (SSL)
出口连接	MSD

表 2. Agilent 5977B GC/MSD 参数

参数	值
型号	5977B
离子源	XTR EI 350
调谐文件	EI-Atune.u
模式	SIM
溶剂延迟	2 min
电子倍增器电压增益模式	1
痕量离子检测	关闭
四极杆温度	150 °C
离子源温度	230 °C
传输线温度	280 °C
驻留时间	100 ms

数据采集和定量方法

采用 MassHunter 工作站软件修订版 B.07.00 进行数据采集和分析。在 SIM 模式下监测每种聚合物特定的热裂解产物，并通过 MassHunter 工作站软件进行定量。表 3 显示了所监测的聚合物热裂解产物的离子和保留时间。

使用 MassHunter 软件的定量分析工具以 1/x 权重因子拟合校准曲线，以进行定量。

表 3. 各聚合物和热裂解产物所监测的离子和保留时间

聚合物	热裂解产物	监测的离子 (m/z)	保留时间 (min)
聚丙烯	2,4-二甲基-1-庚烯	126, 70	4.89
聚乙烯	1,14-十五碳二烯	81	10.29
聚乙烯	1-十五碳烯	97	10.32
聚苯乙烯	苯乙烯	104, 91	5.54
聚苯乙烯-d5	苯乙烯-d5	109	5.50

蓝色：定量离子

方法评估与验证

萃取和分析未受微塑料污染的基质与海沙 (3 wt. %) 的混合物，以评估方法的选择性。基质包括樱桃木、月见草叶、紫杉针、腐殖酸、鲤鱼片、鳌虾、机油和滤纸，代表了环境基质的常见成分，例如蛋白质、脂肪和多糖。

分析 1 g 含 3 wt % 腐殖酸的砂子（加标 0.05 mg/g 和 0.75 mg/g PE、PP 和 PS），确定方法的回收率。对经过数次萃取的 5 个环境样品进行重复分析，以确定方法的重现性。

在两种不同加标浓度下（1 mg/g 和 10 mg/g），分析两种不同粒径的 PE（10–50 µm 和 200–400 µm）与砂子的混合物，以确定微塑料粒径对重现性的影响以及获得代表性试样所需的最小样品量。

为了评估方法对实际环境样品的有效性，采集各种基质至少 500 g，包括沉积物、河流悬浮物、路边土壤、盆栽土壤和污水污泥，进行风干、前处理、萃取，并按照上述流程进行至少 3 次重复分析。小心避免塑料工具和容器对样品的污染。

结果与讨论

线性和定量限

图 1 显示了 0.25 mg/g 混标的提取离子色谱图。
使用聚苯乙烯-d5 内标计算相对峰面积，以绘制校准曲线。所有聚合物均得到最低

0.005 mg/g 的线性校准曲线 ($R^2 > 0.97$)。PP 和 PS 的线性响应最高浓度为 1 mg/g。PE 线性响应的最高浓度为 10 mg/g。
由于塑料在大多数实验室中的使用非常普遍，因此存在微塑料的假阳性检测问题。因此，作者将 LOQs 定义为 95% 的空白样品显示较低信号的浓度。使用 11 个空

白样品的平均相对响应，计算出具有单侧置信区间 ($t_{(p = 0.95; n - 1 = 10)} = 1.812$) 的空白聚合物浓度作为 LOQs (表 4)。

表 4. 定量限

聚合物	LOQ (mg/g)
PP	0.007
PE (m/z 97)	0.007
PE (m/z 81)	0.16
PS	0.008

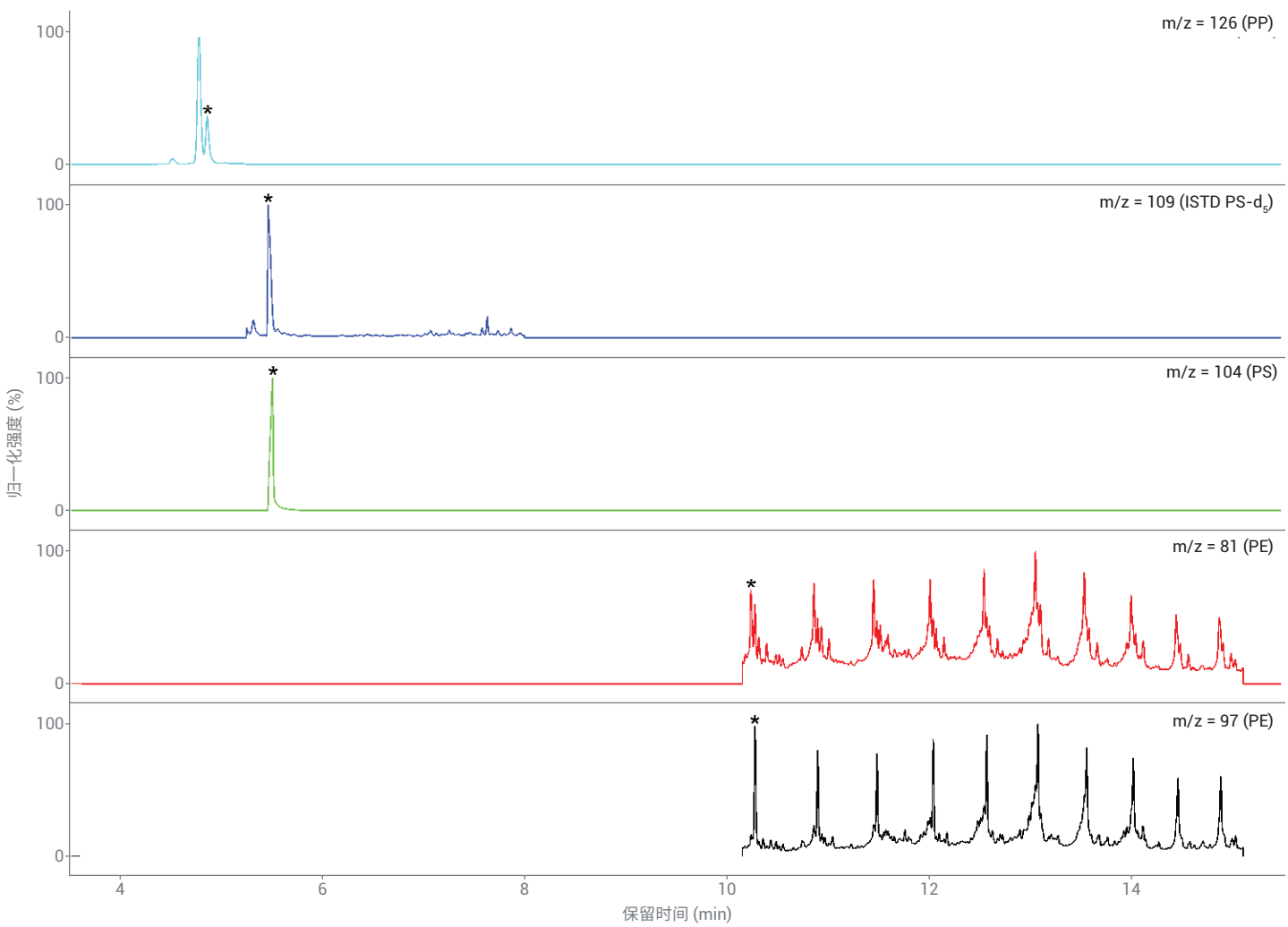


图 1. 0.25 mg/g 混标的提取离子色谱图

方法选择性

由于 pyr-GC/MS 定量方法基于对聚合物热裂解产物的间接定量（表 3），因此评估了未受污染的环境样品中基质成分产生的干扰。所测试的基质未显示对 PP 的干扰。木质基质使 PS 的背景信号增加 0.042 mg/g。尽管氨基酸苯丙氨酸是苯乙烯的热裂解前体，但富含蛋白质的鱼类基质未产生干扰。在用甲醇预萃取的过程中已消除了蛋白质。因此，只要不存在高比例的木质成分，在对环境样品中的 PP 和 PS 进行 pyr-GC/MS 定量分析时，因天然存在的物质导致分析结果出现明显偏差的可能性较低。但是，PE 的定量会受到干扰。例如，30 mg 机油产生的离子强度近似于 1.1 mg PE 标准品。此结果表明，当检测受石油或汽油污染的环境样品时可能会存在问题。总体而言，使用甲醇进行预萃取、使用 THF 进行溶剂萃取并使用指示离子进行定量的方法具有很高的特异性，能够对含有大量有机化合物的基质进行微塑料定量分析。

方法回收率和重现性

表 5 显示了腐殖酸和海砂中 PP、PS 和 PE 的回收率。考虑到 ±20% 的统计不确定性，基质效应未造成问题。其他有机材料（鱼片、鳌虾、树叶和针叶）的回收率相似。相对标准偏差 (RSDs) 低于 10%，证明方法具有出色的重现性和可靠性。

表 5. 不同聚合物和加标浓度下的回收率

聚合物	加标浓度 (mg/g)	平均回收率 (%)*
PP	0.05	95 ± 9
	0.75	85 ± 15
PS	0.05	77 ± 19
	0.75	118 ± 17
PE (m/z = 81)	0.05	< LOQ
	0.75	123 ± 1
PE (m/z = 97)	0.05	114 ± 35
	0.75	131 ± 15

* 置信区间 $t_{(0.95, n-1=2)} = 4.303$

由于对 20 mg（80 µL 热裂解杯可处理的最大样品量）样品进行直接（未萃取）pyr-GC/MS 分析时，RSDs 高达 50%，因此将样品量增加至 1000 mg，并使用四氢呋喃进行 PLE 处理。10–50 µm 的颗粒在 200 mg 重量下的 RSDs < 10%，而 200–400 µm 的颗粒，即使在 1000 mg 重量下 RSD 也高达 21%。这些结果表明，如果样品含有大于 200 µm 的微塑料颗粒，则在 PLE 之前应在低温研磨机中研磨，以获得均匀的颗粒分布。

方法对环境样品的分析性能

对沉积物、悬浮颗粒、土壤和污水污泥中的 PP、PE 和 PS 污染物进行了分析。分析结果如表 6 所示。值得注意的发现包括：

- 在河流沉积物中，检测到的 PP 和 PE 浓度分别为 0.032 ± 0.001 mg/g 和 0.028 ± 0.006 mg/g，而未在 LOQ (0.008 mg/g) 以上检测到 PS。在悬浮物中检测到的 PE 和 PP 最高浓度分别为 0.98 ± 0.02 mg/g 和 0.055 ± 0.010 mg/g
- 在污水污泥中检测到的所有 3 种聚合物的浓度范围为 0.08 ± 0.02 mg/g (PP) 至 3.3 ± 0.3 mg/g (PE)
- 盆栽土壤中的 PE 浓度与污水污泥相似，但仅检测到痕量的 PP。未检测到 PS
- 在路边土壤中检测到了所有 3 种聚合物，最高浓度达到 0.85 ± 0.07 mg/g (PE)

这些结果表明，5977B GC/MSD 适用于对不同类型基质中的 PE、PP 和 PS 微塑料进行 pyr-GC/MS 检测和定量。

表 6. 环境样品分析结果

样品	N	PE		PP		PS	
		平均值 (mg/g)	RSD%	平均值 (mg/g)	RSD%	平均值 (mg/g)	RSD%
土壤 1	7	0.79	6.0	0.039	7.4	0.054	9.6
土壤 2	6	0.85	7.3	0.040	9.2	0.057	7.9
污泥 1	7	3.03	6.8	0.100	12.3	0.61	4.1
污泥 2	7	3.27	4.2	0.081	10.0	0.50	4.0
盆栽土壤	7	2.81	7.1	< 0.007	不适用	< 0.008	不适用

结论

本实验表明, Agilent 5977B GC/MSD 搭配 Agilent 7890B GC 和 Agilent MassHunter 工作站软件, 通过 Dierkes 等人发表的 pyr-GC/MS 方法可以对环境中的微塑料进行稳定、可靠的常规定量分析。GC/MSD 解决了以往方法所面临的检测限较高的问题。具体而言, 成功实现了对测试基质和实际环境样品中 PE、PP 和 PS 微塑料的低浓度定量分析 (最低至 0.005 mg/g)。在分析 0.005 mg/g–1 mg/g 的校准样品时, PE、PP 和 PS 均获得了出色的线性 ($R^2 > 0.97$)。PE 线性响应的最高浓度为 10 mg/g。加标样品和环境样品的相对标准偏差 (RSDs) 均低于 10%, 证明了系统出色的重现性和可靠性。

参考文献

1. Robey, D, 微塑料分析易如反掌, 安捷伦科技公司, 出版号 5994-1584ZHCN, **2019**
2. Scircle, A. et al. Occurrence of Microplastic Pollution at Oyster Reefs and Other Coastal Sites in the Mississippi Sound, USA: Impacts of Freshwater Inflows from Flooding. *Toxics* **2020**, 8(2), 35. <https://doi.org/10.3390/toxics8020035>
3. Dierkes, G. et al. Quantification of microplastics in environmental samples via pressurized liquid extraction and pyrolysis-gas chromatography. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. **2019**, 411, 6959–6968. <https://doi.org/10.1007/s00216-019-02066-9>

查找当地的安捷伦客户中心:

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线:

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价:

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com

DE.6298726852

本文中的信息、说明和指标如有变更, 恕不另行通知。

© 安捷伦科技 (中国) 有限公司, 2020
2020 年 7 月 9 日, 中国出版
5994-2199ZHCN