

从采集到分析：微塑料样品前处理 操作实用指南

微塑料分析的基本实验室配置、样品前处理步骤和分析方法



作者

Subharthe Samandra 和
Bradley Clarke
澳大利亚新型污染物实验室，
墨尔本大学理学院，
化学学院
澳大利亚维多利亚州

Wesam Alwan
安捷伦科技有限公司

前言

微塑料是指粒径在 1 μm 至 5000 μm 之间的所有聚合物。它们可以进一步分为小粒径 (1–1000 μm) 和大粒径 (1–5 mm) 微塑料。此外，微塑料还可以按原生微塑料或次生微塑料区分。原生微塑料是指人为生产用于个人护理产品或工业用途的塑料颗粒，例如微珠或颗粒。次生微塑料是指较大的塑料制品经过风化和降解后产生的小塑料颗粒。目前的研究表明，次生微塑料问题比原生微塑料更为突出^[1]。

从各种基质中提取微塑料的分析过程通常包括采样、样品前处理和仪器分析^[2]。每个步骤都有可能引入新的微塑料或造成微塑料损失。这表明了可靠的样品前处理方法、质量保证和质量控制 (QA/QC) 措施的重要性。QA/QC 使研究人员可以评估数据的可靠性^[2–4]。

任何微塑料颗粒光谱分析的成功都依赖于样品前处理流程的有效性。前处理不充分或不当可能会在分析中引入误差，导致数据不可靠。无论使用红外 (IR) 还是拉曼显微技术，分离微塑料颗粒并将其分散在基底上都对分析至关重要。基质越复杂，所需的样品前处理工作量就越大。样品前处理方法的标准化对于比较不同研究的结果至关重要。

本指南涵盖样品前处理的关键环节，确保使用 **Agilent 8700 LDIR 激光红外成像系统** 实现准确的标准化微塑料表征。本指南侧重于三个主要方面：

- 建立微塑料分析实验室所需的基本工具和注意事项
- 样品前处理过程
- 使用 LDIR 对各种基质进行微塑料分析的方法，包括瓶装饮用水、环境水、沙子和沉积物以及婴儿配方奶粉



图 1. Agilent 8700 LDIR 激光红外成像系统可对微塑料进行快速的常规分析，包括样品中存在的颗粒数量、颗粒粒径及其化学组成

建立微塑料分析实验室所需的基本工具和注意事项

样品前处理是微塑料分析的主要挑战之一，通过对实验室的多个方面进行管理，可以大大减少这一挑战带来的影响。微塑料在环境中无处不在，在实验室环境中也不例外。因此，为了尽可能减少污染，必须采取多项预防措施^[4]。

- 由于微塑料粒径小、重量轻，因而它们可以通过空气传播。因此，尽可能地提高空气洁净度并大幅降低空气污染物的含量非常重要。在提取样品时，使用层流通风橱可以实现这一目标
- 由于没有对微塑料进行严格监测，包括 Milli-Q 水在内的所有试剂都可能含有微塑料，因此，在使用前必须对所有试剂进行过滤并检查是否受到污染
- 玻璃器皿也可能带来污染风险，使用前至少必须用过滤的 Milli-Q 水冲洗。如果可能的话，在冲洗之前，应将玻璃器皿放入高温炉中进行加热处理
- 另一个污染源可能是个人防护设备，例如实验服。建议穿着 100% 纯棉实验服，并使用粘毛滚筒去除细小纤维

为方便进行微塑料分析，表 1 列出了建立微塑料分析实验室所需的基本工具和材料。

表 1. 微塑料分析的基本工具和试剂

	产品说明
过滤	真空抽滤装置。抽滤装置用于过滤提取的微塑料。它的颈部直径为 27 mm，可容纳 25 mm 镀金或镀铝滤膜。
	聚酯 (PETG) 镀金滤膜，0.8 μm，25 mm（部件号 M7300-68009）
	聚酯 (PETG) 镀铝滤膜，0.8 μm，25 mm（部件号 M7300-68011）
	配备手动真空调节器的真空泵 <ul style="list-style-type: none">- 自由气体置换，80 L/min- 电机转速：1440 rpm- 油容量：380 mL
	MS 多联真空抽滤装置
	固定夹
	根据粒径范围对颗粒进行分组的叠层筛网
空气洁净度	层流罩
	HEPA 过滤器
	空气净化器
	吸尘器
样品前处理和分析	棉质实验服
	用于准备试剂的超纯水源
	天平
	加热板
	玻璃器皿
	储存盒
	低辐射玻片（部件号 M7300-68010）
	镊子
	微球（对于粒径验证至关重要）
	聚合物样品试剂盒。用于谱库验证和生成。
	Agilent 8700 LDIR，用于微塑料检测和鉴定 (20–500 μm)
	Agilent Cary 630 FTIR，用于微塑料鉴定 (> 500 μm)

样品前处理过程

微塑料分析涉及几个关键步骤：样品采集、消解、分离和仪器分析（图 2）。本节重点介绍样品消解、微塑料分离和过滤的实际操作，尤其是如何从复杂基质（例如环境样品或富含蛋白质的样品）中有效地分离微塑料。有效去除有机物可确保微塑料分析的准确性，消除潜在的干扰。

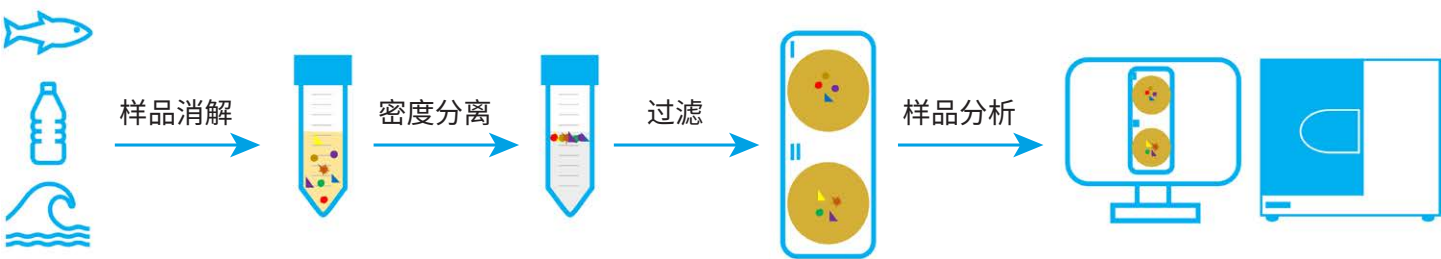


图 2. 微塑料的样品前处理和分析步骤

样品消解（去除有机物）

从自然环境中采集的样品含有高浓度的有机物（例如动物组织、植物碎片和其他微生物），这些物质会干扰微塑料分析，并影响各种光谱技术（红外、拉曼或 LDIR）的准确鉴定和定量。因此，应通过有效的样品消解来降低基质效应并获得干净的样品。表 2 总结了样品消解过程中常用的化学品，包括碱性和酸性溶液、酶以及使用它们的原因。

表 2. 常见样品消解试剂及其用途

类型	示例	用途
碱类	过氧化氢 (H ₂ O ₂)	因其能高效去除有机物、对微塑料的影响较小而被广泛使用 ^[6-7]
	芬顿试剂 (H ₂ O ₂ + Fe (II))	对水和沉积物样品有效；受温度影响，如果不加以控制，可能会影响聚合物 ^[8,9]
	- 氢氧化钠 (NaOH) - 氢氧化钾 (KOH) - 次氯酸钠 (NaClO)	适用于动物组织浸软。大分子碳水化合物（如纤维素）不易发生碱性水解 ^[10-11]
酸类	- 硝酸 (HNO ₃) - 盐酸 (HCl) - 高氯酸 (HClO ₄) - 硫酸 (H ₂ SO ₄)	可有效去除有机物，但可能会降解微塑料；通常与碱性消解结合使用 ^[12]
酶	- 纤维素酶 - 脂肪酶 - 蛋白酶	温和的消解方法，针对特定的有机化合物，而不会影响微塑料；后续通常会进行氧化处理以确保完全去除 ^[13]

密度分离

样品消解后，可以利用密度分离法有效提取微塑料颗粒^[9]。理论上，当含有微塑料的基质溶液悬浮在饱和的高浓度盐溶液中时，微塑料颗粒会浮到顶部，而较重的无机物则会沉到底部（图 3）。可以根据成本、环境影响以及环境中最常见的塑料聚合物的密度 (0.85–1.45 g/cm³) 来选择合适的密度分离试剂（图 4 和表 3）^[14,15]。

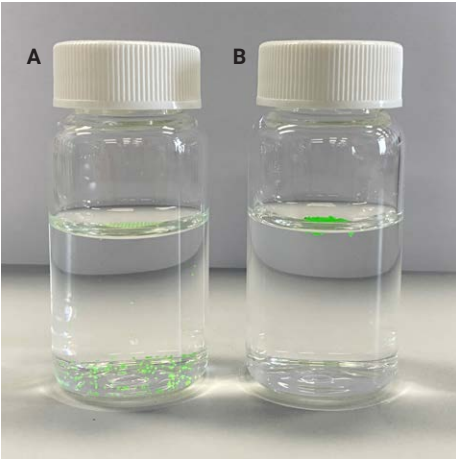


图 3. 绿色聚乙烯微球（直径：250–300 μm）悬浮于 (A) 蒸馏水和 (B) 氯化钙 (CaCl₂) 溶液中。使用高浓度盐溶液时，颗粒明显浮到顶部

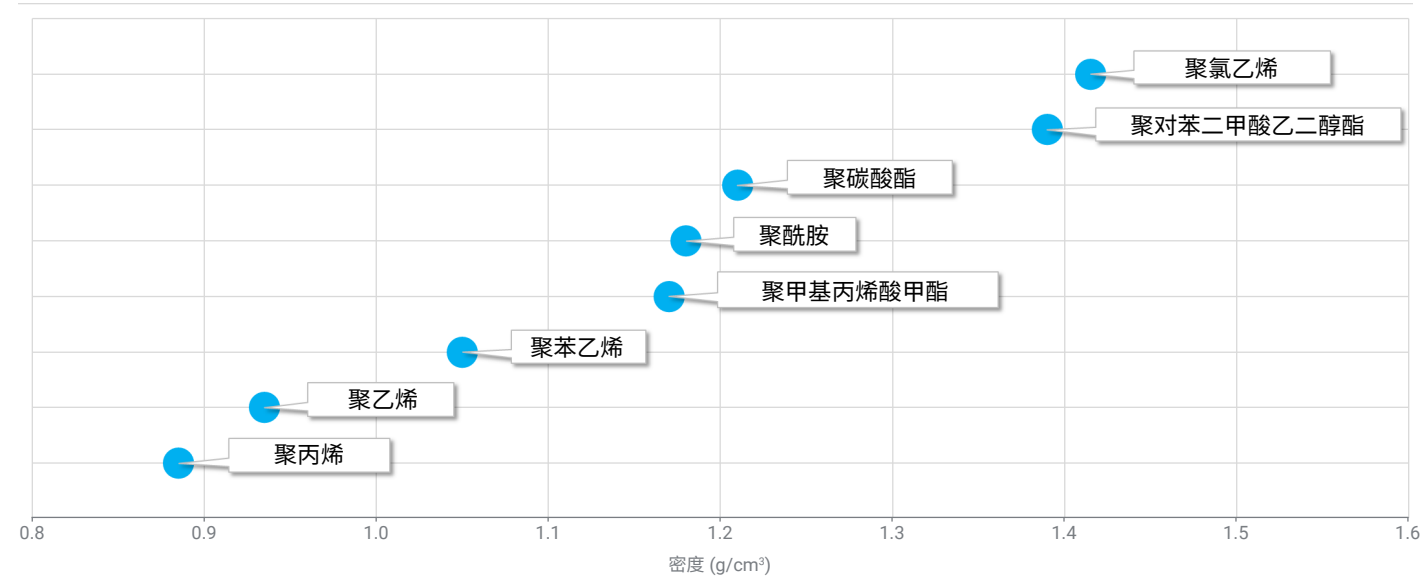


图 4. 常见聚合物的平均密度

表 3. 常见密度分离试剂及其用途

化学物质	溶液密度 (g/cm³)	使用和限制
氯化钠 (NaCl)	1.15–1.30	– 由于成本低、无危害且对许多常见塑料有效而被广泛使用 – 对高密度聚合物（如 PET 或 PVC）无效
氯化钙 (CaCl ₂)	1.30–1.35	– 低成本 – CaCl ₂ 可能会残留在最终样品中，干扰微塑料检测
碘化钠 (NaI)	1.55–1.80	– 适用于所有类型的微塑料 – 较为昂贵
氯化锌 (ZnCl ₂)	1.50–1.80	– 密度非常高，对所有塑料都有效 – 非常昂贵且对环境有害

过滤

无论样品的复杂程度（可能涉及消解和密度分离）如何，所有样品最终都需要通过过滤来采集悬浮的微塑料。过滤可以在样品前处理期间进行，也可以直接在用于分析的滤膜上过滤。以下是一些注意事项：

样品前处理过程中的常规过滤

- 由于玻璃纤维膜容易脱落纤维，因此不建议用于红外光谱分析
- 可以使用纤维素或聚碳酸酯滤膜，只要能有效保留微塑料即可。注意聚碳酸酯滤膜上脱落的微塑料
- 过滤前需测试滤膜与试剂的化学兼容性

直接在滤膜上分析

- 含有微塑料的悬浮液可通过连接至真空抽滤系统的镀金滤膜或镀铝滤膜（孔径 0.8 μm 、直径 25 mm）直接进行过滤（图 5）。然后将滤膜转移到双位滤膜支架上，并放入 8700 LDIR 中直接进行微塑料表征
- 也可以将微塑料悬浮液沉积在低辐射红外玻片上，溶剂蒸发后，将其转移到 LDIR 中进行分析



1 使用随附的镊子放置滤膜



2 放置漏斗



3 用夹子固定抽滤组件



4 过滤样品



5 将滤膜放在凸起的平台上



6 拧紧黄铜固定环

图 5. 将微塑料样品收集到镀铝滤膜上所需的样品过滤设备和步骤，以备后续使用 Agilent 8700 LDIR 激光红外成像系统进行分析

使用 LDIR 分析各种基质中微塑料的方法

世界各地的研究团队已将 LDIR 作为分析和表征各种基质中的微塑料（包括地下水、瓶装水、空气沉积样品和鱼肠）的重要工具^[16-19]。

本节总结了用于从常见基质中分离微塑料的几种样品前处理方法，经过这些方法处理后可以使用 LDIR 进行分析。



瓶装饮用水

瓶装水的样品前处理非常简单，因为它被认为是一种干净的基质。这种基质无需进行样品消解和密度分离，只需直接过滤。整瓶水（600–1000 mL）可以通过聚酯（PETG）镀金或镀铝膜（0.8 μm , 25 mm）过滤。

1. 准备好过滤烧瓶，将滤膜放在玻璃砂芯上，然后将漏斗放在上面
2. 将玻璃砂芯和漏斗牢牢夹在一起。将水慢慢倒入滤膜中
3. 过滤完水后，清洗漏斗内部三次，确保粘在侧壁上的任何微塑料都收集在滤膜上
4. 最后将滤膜放置在突起平台上，用黄铜固定环拧紧，确保表面平整，不会影响样品的线性分析。然后可以使用 LDIR 直接在滤膜上分析样品。如需查阅完整的应用简报，请单击[此处](#)^[20]



环境水

环境水通常含有高浓度的有机物，一开始需要进行消解处理。

1. 首先，使用孔径适合目标粒径的滤膜（通常在 5–20 μm 之间）对样品进行过滤
2. 然后将滤膜转移到 30% H_2O_2 溶液中，去除所有有机物。一般情况下，会将 H_2O_2 振荡加热至 55 $^{\circ}\text{C}$ 并持续 12 至 24 小时，确保去除大部分（或全部）有机物
3. 再次过滤溶液，并用过滤的 Milli-Q 水清洗玻璃样品瓶三次
4. 去除所有有机物后，将滤膜转移到 CaCl_2 或 ZnCl_2 溶液中，通过密度分离来分离微塑料
5. 然后将含有分离微塑料的上层转移到低辐射玻片上，使用 8700 LDIR 进行分析^[16]



土壤和沉积物

从土壤和沉积物中分离微塑料的方法有很多种，但大多数都遵循标准的样品前处理方法（样品消解后进行密度分离），如图6所示。

1. 在样品处理之前，对样品进行风干、冷冻干燥或烘干，以确保整个研究过程中的重量一致性
2. 然后必须对样品进行筛分，确保均匀性并去除较大的颗粒，并获得所需粒径范围内的颗粒^[21]
3. 接着将样品浸入 55 °C 的 30% H₂O₂ 溶液或芬顿试剂中除去有机物。为了有效去除有机物，使用酶处理非常重要
4. 随后，使用 NaCl、CaCl₂ 和 ZnCl₂ 进行密度分离，来分离微塑料
5. 与环境水的分析流程类似，随后将含有微塑料的一层转移到低辐射玻片上或通过镀金或镀铝滤膜过滤，然后使用 8700 LDIR 进行分析^[19]



1 称量干土壤样品



2 进行样品消解



3 将样品放置较长一段时间，确保去除有机物



4 进行密度分离



5 过滤样品



6 将滤膜放在滤膜支架上

图6. 土壤样品前处理步骤



婴儿配方奶粉

食品与环境样品一样具有挑战性，但原因有所不同。食品中含有不同含量的脂肪、碳水化合物、维生素和蛋白质，需要去除这些物质后才能进行微塑料分析。未经优化的微塑料样品前处理方法可能会影响检测到的颗粒数量，并导致微塑料鉴定结果呈假阳性。据我们所知，只有两项研究使用了 LDIR 分析婴儿配方奶粉。

第一项研究：

1. 将婴儿配方奶粉 (5 g) 加入装有浓硝酸 (68%) 的 100 mL 烧杯中，消解大分子物质。静置 48 小时
2. 然后，将溶液加热到 95 °C 并保持至少 3 个小时，充分消解所有蛋白质
3. 3 小时后，将溶液用 13 µm 滤膜过滤，然后重悬所有颗粒。然后将烧杯装满乙醇并超声处理 30 分钟
4. 溶液过滤后，将悬浮颗粒浓缩至 200 µL，并转移到低辐射玻片上进行 LDIR 分析^[22]

提取微塑料的另一种方法是分离脂肪层和液体层：

1. 具体方法是使用氯化钠 (NaCl)，并在 3000 rpm 下离心 30 分钟
2. 然后，将液体层用 47 mm、14 µm 的聚碳酸酯滤膜过滤。干燥后，用乙醇将颗粒洗入试管中
3. 脂肪层需要进行消解，用 0.1 M 氢氧化钠 (NaOH) 在 50–60 °C 下加热 20 分钟
4. 消解后的样品用 47 mm、14 µm 的聚碳酸酯滤膜过滤
5. 然后遵循与下层相同的流程。接着将两层都用镀金滤膜进行过滤，并使用 LDIR 直接进行分析。如需查阅完整的应用简报，请单击[此处](#)^[23]

结论

微塑料的分离是一个复杂的过程。造成这种情况的原因有很多，包括样品前处理方法的多样化、微塑料的普遍存在性、引入污染物的风险以及样品中微塑料的异质性。因此，微塑料分析具有挑战且耗时。无论使用何种表征技术（LDIR、FTIR、拉曼还是其他技术），情况都是如此。

了解微塑料对健康和环境的影响至关重要。为此，全球的研究人员都在努力简化分析过程，包括开发分离微塑料的标准化方法、制作标准物质和生成全面的聚合物谱库。

Agilent 8700 LDIR 微塑料分析工作流程在这一全球环境挑战中发挥着关键作用。该系统提供了高效的微塑料分析，能够节省大量时间。直接在滤膜上进行分析的 LDIR 方法所需的样品处理更少，减少了样品污染的可能性，并提供了优异的准确度和更高的样品通量。8700 LDIR 的自动化工作流程有助于准确表征涉及大量样品的不同基质中的微塑料，并提供所需的高样品通量。

参考文献

1. Ziani, K.; Ioniță-Mîndrican, C. B.; Mititelu, M.; Neacșu, S. M.; Negrei, C.; Moroșan, E.; Drăgănescu, D.; Preda, O. T. Microplastics: A Real Global Threat for Environment and Food Safety: A State of the Art Review. *Nutrients* **2023**, *15*(3), 617. DOI: [10.3390/nu15030617](https://doi.org/10.3390/nu15030617)
2. Wang, W.; Wang, J. Investigation of Microplastics in Aquatic Environments: an Overview of The Methods Used, from Field Sampling to Laboratory Analysis. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* **2018**, *108*, 195–202. DOI: [10.1016/j.trac.2018.08.026](https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.08.026)
3. Brander, S. M.; Renick, V. C.; Foley, M. M.; Steele, C.; Woo, M.; Lusher, A.; Carr, S.; Helm, P.; Box, C.; Cherniak, S.; et al. Sampling and Quality Assurance and Quality Control: A Guide for Scientists Investigating the Occurrence of Microplastics Across Matrices. *Applied Spectroscopy* **2020**, *74*, 1099–1125. DOI: [10.1177/0003702820945713](https://doi.org/10.1177/0003702820945713)
4. Schymanski, D.; Oßmann, B. E.; Benismail, N.; Boukerma, K.; Dallmann, G.; von der Esch, E.; Fischer, D.; Fischer, F.; Gilliland, D.; Glas, K. et al. Analysis of Microplastics in Drinking Water and Other Clean Water Samples With Micro-Raman and Micro-Infrared Spectroscopy: Minimum Requirements and Best Practice Guidelines. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2021**, *413*, 5969–5994. DOI: [10.1007/s00216-021-03498-y](https://doi.org/10.1007/s00216-021-03498-y)
5. Masura, J.; Baker, J. E.; Foster, G. D.; Arthur, C.; Herring, C. Laboratory Methods for the Analysis of Microplastics in the Marine Environment: Recommendations for Quantifying Synthetic Particles in Waters and Sediments. *NOAA Technical Memorandum NOS-OR&R-48*, **2015**.
6. Mason, S. A.; Kammin, L.; Eriksen, M.; Aleid, G.; Wilson, S.; Box, C.; Williamson, N.; Riley, A. Pelagic Plastic Pollution Within the Surface Waters of Lake Michigan, USA. *Journal of Great Lakes Research* **2016**, *42*, 753–759. DOI: [10.1016/j.jglr.2016.05.009](https://doi.org/10.1016/j.jglr.2016.05.009)
7. Munno, K.; Helm, P. A.; Jackson, D. A.; Rochman, C.; Sims, A. Impacts of Temperature and Selected Chemical Digestion Methods on Microplastic Particles. *Environmental Toxicology and Chemistry* **2018**, *37*, 91–98. DOI: [10.1002/etc.3935](https://doi.org/10.1002/etc.3935)
8. Tagg, A.; Harrison, J. P.; Ju-Nam, Y.; Sapp, M.; Bradley, E. L.; Sinclair, C. J.; Ojeda, J. J. Fenton's Reagent for the Rapid and Efficient Isolation of Microplastics from Wastewater. *Chemical Communications* **2017**, *53*, 372–375. DOI: [10.1039/C6CC08798A](https://doi.org/10.1039/C6CC08798A)
9. Hurley, R. R.; Lusher, A. L.; Olsen, M.; Nizzetto, L. Validation of a Method for Extracting Microplastics from Complex, Organic-Rich, Environmental Matrices. *Environmental Science & Technology* **2018**, *52*, 7409–7417. DOI: [10.1021/acs.est.8b01517](https://doi.org/10.1021/acs.est.8b01517)
10. Schrank, I. Möller, J. N.; Imhof, H. K.; Hauenstein, O.; Zielke, F.; Agarwal, S.; Löder, M. G. J.; Greiner, A.; Laforsch, C. Microplastic Sample Purification Methods – Assessing Detrimental Effects of Purification Procedures on Specific Plastic Types. *Sci. Total Environ.* **2022**, *833*, 154824. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2022.154824](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154824)
11. Leon Thacker, H. Chapter 6: Alkaline hydrolysis. In *Carcass Disposal: A Comprehensive Review*, **2004**.
12. Liu, M.; Lu, S.; Chen, Y.; Cao, C.; Bigalke, M.; He, D. Analytical Methods for Microplastics in Environments: Current Advances and Challenges. Springer Berlin Heidelberg Berlin, Heidelberg, 1–22.
13. Mbachu, O.; Jenkins, G.; Pratt, C.; Kaparaju, P. Enzymatic Purification of Microplastics in Soil. *MethodsX* **2021**, *8*, 101254. DOI: [10.1016/j.mex.2021.101254](https://doi.org/10.1016/j.mex.2021.101254)
14. Brignac, K. C.; Jung, M. R.; King, C.; Royer, S. J.; Blickley, L.; Lamson, M. R.; Potemra, J. T.; Lynch, J. M. Marine Debris Polymers on Main Hawaiian Island Beaches, Sea Surface, and Seafloor. *Environ. Sci. Technol.* **2019**, *53*(21), 12218–12226. DOI: [10.1021/acs.est.9b03561](https://doi.org/10.1021/acs.est.9b03561)
15. Cutroneo, L.; Reboa, A.; Geneselli, I.; Capello, M. Considerations on Salts Used for Density Separation in the Extraction of Microplastics From Sediments. *Mar. Pollut. Bull.* **2021**, *166*, 112216. DOI: [10.1016/j.marpolbul.2021.112216](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2021.112216)
16. Samandra, S.; Johnston, J. M.; Jaeger, J. E.; et al. Microplastic Contamination of an Unconfined Groundwater Aquifer in Victoria, Australia. *Sci. Total Environ.* **2022**, *802*, 149727. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2021.149727](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149727)
17. Nizamali, J.; Mintenig, S. M.; Koelmans, A. K. Assessing Microplastic Characteristics in Bottled Drinking Water and Air Deposition Samples Using Laser Direct Infrared Imaging. *J. Hazardous Mat.* **2023**, *441*, 129942. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2022.129942](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129942)
18. López-Rosales, A.; Andrade, J.; Fernández-González, V.; López-Mahía, P.; Muniategui-Lorenzo, S. A Reliable Method for the Isolation and Characterization of Microplastics in Fish Gastrointestinal Tracts Using an Infrared Tunable Quantum Cascade Laser System. *Marine Poll. Bull.* **2022**, *178*, 113591. DOI: [10.1016/j.marpolbul.2022.113591](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113591)

19. Cheng, Y-L.; Zhang, R.; Tisinger, L.; et al. Characterization of Microplastics in Sediment Using Stereomicroscopy and Laser Direct Infrared (LDIR) Spectroscopy. *Gondwana Research* **2022**, 108, 22–30. DOI: [10.1016/j.gr.2021.10.002](https://doi.org/10.1016/j.gr.2021.10.002)
20. Samandra, S.; Clarke, B.; Alwan, W. 准确分析瓶装饮用水中的微塑料, 安捷伦科技公司应用简报, 5994-5616ZHCN, **2023**
21. Lee, H.; Kim, S.; Sin, A.; Kim, G.; Khan, S.; Nadagouda, M. N.; Sahle-Demessie, E.; Han, C. Pretreatment Methods for Monitoring Microplastics in Soil and Freshwater Sediment Samples: A Comprehensive Review. *Sci. Total Environ.* **2023**, 871, 161718. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2023.161718](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161718)
22. Liu, S. et al. Detection of Various Microplastics in Placentas, Meconium, Infant Feces, Breastmilk and Infant Formula: A Pilot Prospective Study. *Sci. Total Environ.* **2022**, 13(854), 158699. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2022.158699](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158699)
23. Samandra, S.; Clarke, B.; Alwan, W. 准确表征婴儿配方奶粉中的微塑料, 安捷伦科技公司应用简报, 5994-5928ZHCN, **2023**

更多信息

- [Agilent 8700 LDIR 激光红外成像系统](#)
- [Agilent Clarity 软件](#)
- [微塑料技术常见问题解答](#)
- [分析水中的微塑料](#)

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/chem/8700-lidir

DE29938198

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, 2024
2024 年 8 月 20 日, 中国出版
5994-7587ZHCN