

DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2022081902

李珍, 孙丽娜, 王晓旭, 等. 基于热裂解气相色谱-质谱技术对农田土壤中纳米塑料的检测方法[J]. 环境化学, 2024, 43(3): 885-894.

LI Zhen, SUN Lina, WANG Xiaoxu, et al. Detection method of nanoplastics in farmland soils by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry[J]. Environmental Chemistry, 2024, 43 (3): 885-894.

基于热裂解气相色谱-质谱技术对农田土壤中 纳米塑料的检测方法*

李珍^{1,2}** 孙丽娜¹ 王晓旭¹ 罗庆¹ 王辉¹

(1. 沈阳大学环境学院区域环境与生态修复教育部重点实验室, 沈阳, 110044; 2. 沈阳大学建筑工程学院, 沈阳, 110044)

摘要 纳米塑料因其在环境中的普遍分布及其潜在的不利影响引起了人们的极大关注. 尽管纳米塑料已经在水生态系统中被检测到, 但土壤中纳米塑料的检测和定量分析仍然是一个未解决的挑战. 因此, 本文以聚苯乙烯 (PS) 颗粒作为土壤基质中纳米塑料 (NPs) 模型, 基于热裂解-气相色谱-质谱 (Py-GC-MS) 技术, 提出了一种灵敏、有效、低成本的萃取方法用于对纳米塑料的鉴定和定量. 从农田土壤中提取纳米塑料的过程包括密度浮选、碱性消解、水浴蒸发和膜过滤. 在采用 10% KOH 为消解液、ZnCl₂ ($\rho=1.6 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$) 为浮选液的最佳萃取条件下, PS 纳米塑料的萃取效率最高. 此外, 为了验证所提出方法的可行性, 采集并检测了 6 个实际土壤样品. 研究表明, 在添加浓度为 $100 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 的 25 nm 聚苯乙烯纳米塑料的 6 个实际土壤样品中, PS 纳米塑料的回收率为 77.8%—88.3%. 检测结果显示, 4 个土壤样品中检测到 PS 纳米塑料, 浓度为 $3.45\text{—}10.26 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 其余 2 个样品没有检测到纳米塑料, 这可能是由于 PS 纳米塑料的浓度低于检测限. 说明纳米塑料的分析检测方法是可行的. 因此, 本研究为土壤基质中纳米塑料的分析提供了一种有效的方法.

关键词 纳米塑料, 检测, 定量, 农田土壤, 热裂解-气相色谱-质谱.

Detection method of nanoplastics in farmland soils by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry

LI Zhen^{1,2}** SUN Lina¹ WANG Xiaoxu¹ LUO Qing¹ WANG Hui¹

(1. Key Laboratory of Regional Environment and Eco-Remediation of Ministry of Education, College of Environment, Shenyang University, Shenyang, 110044, China; 2. College of Construction Engineering, Shenyang University, Shenyang, 110044, China)

Abstract Nanoplastics have attracted extensive attention due to ubiquitous distribution in the environment and potential adverse impacts. Although nanoplastics have been detected in aquatic ecosystems, their detection and quantitative analysis in soil remain an unsolved challenge. Therefore, a sensitive, effective, and low-cost extraction procedure is put forward for identification and quantification of nanoplastics (NPs) based on Pyrolysis-Gas Chromatography-Mass Spectrometry (Py-GC-MS) with polystyrene (PS) particles as a model NPs in soil samples. The procedures of extracting nanoplastics from farmland soils included density flotation, alkaline digestion, water bath evaporation and membrane filtration. The highest extraction efficiency for PS was achieved using the 10% KOH as digestion solution and ZnCl₂ ($\rho=1.6 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$) as flotation solution. Furthermore, six

2022年8月19日收稿(Received: August 19, 2022).

* 国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(2014CB441106)资助.

Supported by the National Basic Research Program of China (973 Program) (2014CB441106).

** 通信联系人 Corresponding author, E-mail: lizhen_88@syu.edu.cn

actual soil samples were collected and detected to verify the feasibility of the proposed approach. The results demonstrated that the recovery of PS was 77.8%—88.3% with 25 nm PS of $100 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ added in six actual soil samples. The test results showed that PS were detected in four soil samples at concentrations ranging from $3.45 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ to $10.26 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, while no PS were detected in the other two samples, due to the concentration of PS was below the detection limit. The analysis and detection method of NPs was feasible. Therefore, this study provided an efficient method for nanoplastics analysis in soil.

Keywords nanoplastics, detection, quantification, farmland soils, Py-GC-MS.

微塑料(MPs, $1 \mu\text{m}$ — 5mm)^[1]和纳米塑料(NPs, $< 1 \mu\text{m}$)^[2]的环境污染问题已成为一个全球性问题. 纳米塑料由于体积小、比表面积大, 具有较强的流动性, 不仅能够影响土壤的理化性质和结构, 而且可以显著地在其表面吸附更多的污染物^[2-5], 如多环芳烃^[6-7]、农用化学品^[8]、多氯联苯^[9]和四环素^[10]等. 由于地膜和污水污泥产品的使用, 农田中NPs的积累可能会对土壤生态系统造成直接或间接的影响^[11-14], 并沿着食物链传递, 可能威胁到土壤微生物和人类. 虽然有越来越多的证据表明环境中纳米塑料的存在及其带来的风险, 但由于缺乏适当的检测方法, 很少有人研究土壤基质中的纳米塑料, 目前在纳米塑料的检测和定量方面仍存在知识空白^[15-19]. 因此, 迫切需要建立一种成本低且可靠的检测方法分析土壤基质中的纳米塑料^[20].

目前, 环境中纳米塑料最常见的分析过程是密度浮选分离样品、过滤预富集、对有机基质进行化学消解, 使用透射电子显微镜(TEM)^[21-22]、(微观)傅里叶变换红外光谱(FTIR)^[23-24]和拉曼光谱(Raman)进行检测^[25-27]. 但这些方法存在回收率低、成本高、样本量小、耗时长等缺点. 此外 FTIR 和 Raman 的空间分辨率分别为 $20 \mu\text{m}$ 和 $1 \mu\text{m}$, 从而阻碍了它们在纳米塑料分析中的应用^[28-34]. 目前, 已经有一些技术, 如纳米颗粒跟踪分析(NTA)^[24,35], 单颗粒电感耦合等离子体质谱(spICP-MS)^[36], 云点提取与热降解相结合技术, 以及结合粒度分级的高分辨率分析技术已被用于量化纳米塑料. 然而, 这些技术往往受到复杂的环境基质和低浓度的纳米塑料的限制^[21]. 目前, 热裂解气相色谱-质谱技术(Py-GC-MS)可以很好地用于复杂环境基质中纳米塑料的分析, 并被认为是一种很有前景的分析方法^[20-21, 37-42]. Py-GC-MS 可以克服 FTIR 和 Raman 光谱的缺点^[21,43-45], 并已成功用于识别添加到水和土壤中的纳米塑料标准品. Wahl 等^[3]使用 Py-GC-MS 从农业土壤样品的水提取物中发现 PE、PS 和 PVC 纳米塑料. 最近, Zhou 等^[42]证明了通过蛋白质电晕耦合 Py-GC-MS 技术测定水中纳米塑料的可行性. Zhou 等^[20]首次提出了一种基于 Triton X-45(TX-45)的浊点萃取(CPE)技术, 用于水体环境中痕量纳米塑料的预富集, 得出 PS 纳米塑料的回收率为 84.6%—96.6%. 然而, 关于土壤环境中纳米塑料的研究却微乎其微, 这主要是因为它们的浓度水平较低, 缺乏可靠的提取、预浓缩和定量方法^[20,37,42]. 针对当前纳米塑料研究的不足, 本研究可以为土壤中纳米塑料的检测和定量分析提供一定的技术支持.

本文的主要目的是建立一种从农田土壤中提取和定量纳米塑料的方法. 聚苯乙烯(PS)纳米塑料被选为纳米塑料模型, 从浮选溶质的选择、消解液的类型和浓度 3 个方面对萃取过程进行了优化; 研究了腐植酸(HA)和纳米塑料粒径对纳米塑料萃取效率的影响; 评价了检测方法的精密度、重现性和检出限, 并应用该技术对实际土壤样品中的纳米塑料进行检测和定量分析.

1 材料和方法(Materials and methods)

1.1 材料和化学试剂

氯化钠(NaCl)、碘化钠(NaI)和氯化锌(ZnCl_2)为分析纯, 购自上海化学试剂公司(中国上海). 将 NaCl、NaI 和 ZnCl_2 溶液溶解在超纯水中, 使其密度分别达到 1.2、1.8、 $1.6 \text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. 30% 过氧化氢(H_2O_2)溶液购自国药化学试剂有限公司(中国上海). 3 种 PS 纳米塑料的直径为 25、100、800 nm, 购自 Phosphorex (Hopkinton, MA)公司. 本实验中所用的玻璃微纤维过滤器(直径 25 mm, 孔径 $1 \mu\text{m}$)产自 Whatman (Maidstone, England)公司.

土壤样品采自辽宁省沈阳市农用地, 主要使用两种类型的农业用地: 一是农田, 主要种植玉米和大豆; 另一种是蔬菜大棚, 主要种植蔬菜和水果, 如黄瓜、西红柿和西瓜。根据调查, 在过去的 10 年, 这片土地经常被耕种, 在种植过程中使用塑料膜覆盖作物留下了大量的塑料碎片。用铲子在每个采样地 0—5 cm 处随机取样, 共选取 6 种作物类型的农田进行采样。将采来的土样放在阴凉处风干, 在半干状态时压碎土块, 除去植物根、茎、叶和石块等杂物。然后将土壤样品过 1 mm 的不锈钢筛网进行筛分。测得土壤理化性质为: pH 值为 7.1; 阳离子交换量为 $15.3 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$; 总有机物含量为 2.29%; 总有机碳含量为 1.33%; 孔隙率为 52.4%; 含水率为 13.5%; 黏土占 10.5%; 粉砂占 39.6%; 砂土占 49.9%。

1.2 从土壤中提取纳米塑料

本实验称取 100 g 土壤样品, 放入 500 mL 烧杯中, 加入 10% KOH 溶液与土壤混合, 置于磁力搅拌器上。磁力搅拌器的温度设定为 $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$, 转子速度为 $300 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 持续搅拌消解 48 h, 再将样品置于 $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 的水浴中, 直至溶剂完全蒸发。向烘干的消解产物中加入 200 mL 的 ZnCl_2 盐溶液进行密度浮选, 在 $45 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $300 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的磁搅拌器上放置 6 h 以上, 使纳米塑料颗粒与土壤分离, 悬浮于 ZnCl_2 溶液中, 静置沉淀。采用孔径为 $1 \text{ } \mu\text{m}$ 的玻璃纤维滤膜过滤 ZnCl_2 浮选液。将滤液放入 250 mL 烧杯中, 于 $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中蒸发干燥后浓缩至 1 mL; 接着将烧杯置于 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $300 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 的磁力搅拌器上搅拌 3 min, 以促进纳米塑料的均匀分散。最后提取 60 μL 的浓溶液, 转移到 80 μL 的裂解杯中, 再放入 $45 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘箱中干燥。此步骤重复 3 次。干燥后放入 Py-GC-MS 设备中进行检测分析。采用空白对照以确保没有任何仪器或材料污染样品。

在回收率实验中, 先将 PS 纳米塑料置于室外, 暴露在气候变化的自然环境中, 在太阳光紫外线的作用下进行老化。老化 60 d 后再将粒径为 25 nm PS 纳米塑料以 $100 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 的浓度加入到土壤中并混合均匀。考察了浮选介质和消解液对纳米塑料回收率的影响, 优化密度浮选过程。NaCl、 ZnCl_2 和 NaI 的密度分别为 1.2 、 1.6 、 $1.8 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ 时被认为是有效且相对便宜的浮选介质。在添加了 PS 纳米塑料的 100 g 土壤样品中, 分别添加 20 mL 不同浓度的 KOH(2%—15%) 和 H_2O_2 (5%—40%) 溶液。此外, 本实验还考察了向土壤中加入不同浓度的 DOM(5、10、20、40 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 PS 塑料粒径(25、100、800 nm) 对萃取纳米塑料的影响。

1.3 Py-GC-MS 分析条件

多孔裂解器(EGA/PY-3030D, Frontier Laboratories, Japan)与配备了 ULTRA ALLOY-5(5% 二苯基二甲聚硅氧烷)金属毛细管柱($30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm i.d.} \times 0.25 \text{ } \mu\text{m}$)(P/N: UA5(MS/HT)-30M-0.25F, Frontier Laboratories)的 Thermo Scientific TRACE ULTRA 气相色谱仪连接, 并与 Thermo ISQ 质谱检测器连接。Py-GC-MS 的实验参数设置如表 1 所示。为了简化数据分析, Py-GC-MS 检测得到的数据用 F-search 软件和 NIST 02 质谱库进行处理。F-search 谱库可以快速检索塑料聚合物热解产物的质谱, 同时可以轻松地将未知聚合物的数据与 Py-GC-MS 获得的数据进行比较, 实现未知物质的快速分析。

表 1 Py-GC-MS 检测条件

Table 1 Conditions for Py-GC-MS detection

裂解炉 Pyrolyzer	Frontier EGA/PY-3030D
载气 Carrier gas	氮气
裂解温度 Pyrolysis temperature	$600 \text{ }^{\circ}\text{C}$
裂解炉与GC的界面温度 Interface temperature	$320 \text{ }^{\circ}\text{C}$
气相色谱 Gas chromatograph	Thermo TRACE GC ULTRA
分流比 Split ratio	1:100
流量 Flow (const.)	$1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$
毛细管柱 Column	Ultra ALLOY-5($30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \text{ } \mu\text{m}$, 5%二苯基聚硅氧烷+95%二甲基聚硅氧烷)
GC进口温度 GC inlet temperature	$320 \text{ }^{\circ}\text{C}$

续表 1

裂解炉 Pyrolyzer	Frontier EGA/PY-3030D
传输线温度 Transfer line temperature	280 °C
GC-MS界面温度 Interface temperature	320 °C
程序升温 Temperature program	40 °C (2 min), 以 20 °C·min ⁻¹ 加热到 320 °C (13 min)
质谱 Mass spectrometer	Thermo ISQ
EI源电离能 EI ionization energy	70 eV
源温度 Source temperature	230 °C
扫描范围 Scanning range	35—600 m/z

1.4 Py-GC-MS 对 PS 纳米塑料的定量分析

为了在复杂的土壤样品中识别 PS 纳米塑料, 需要提供特定的指示性化合物. 因此, 通过热解法测定聚合物标准品, 建立了 PS 纳米塑料数据库. 将获得的总离子流图和质谱图与文献数据进行比较. 选择含量最丰富且具有特异性的化合物作为聚合物定性和定量分析的指标. 通过使用 PS 特征离子的质谱图和积分结果, 用预先选择的特异性化合物对 PS 进行外部校准. 本研究使用 Origin 2019b (OriginLab Corporation) 计算 PS 纳米塑料的拟合曲线.

2 结果与讨论 (Results and Discussion)

2.1 纳米塑料的鉴定与指示化合物选择

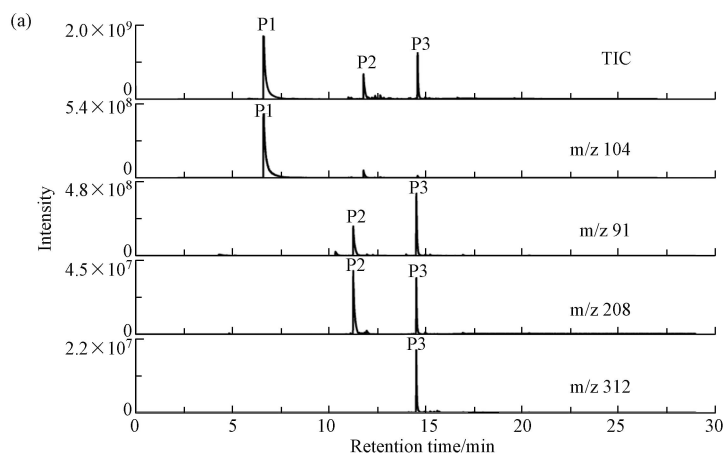
关于 PS 纳米塑料的指示化合物信息列于表 2 中, 裂解色谱图如图 1 所示. PS 有两种有益的指示化合物, 苯乙烯单体及其三聚体, 它们在特异性和丰度上不同. 其中苯乙烯单体 (m/z 104) 的含量最高, 苯乙烯三聚体 (m/z 312) 特异性最高. 虽然苯乙烯单体的含量较高, 但由于甲壳素广泛存在于自然环境中, 在热解过程中会释放苯乙烯单体, 因此不能用于 PS 的鉴定和定量. 相比之下, 苯乙烯三聚体对聚苯乙烯具有更高的可靠性和特异性, 由于 m/z 91 对苯乙烯三聚体具有最强的信号强度, 因此选择其作为定量离子. 所以, 苯乙烯三聚体是合适的指示化合物^[46].

表 2 PS 纳米塑料的热解行为及热解图信息

Table 2 Pyrolytic behavior of PS nanoplastics and pyrogram information

峰 Peak	特征裂解产物 Characteristic decomposition product	指标离子 Indicator ions (m/z)	保留时间/min Retention time
P1	苯乙烯单体 (styrene)	51, 78, 104	5.24
P2	苯乙烯二聚体 (styrene dimer)	91, 104, 115, 130, 193, 208	11.26
P3	苯乙烯三聚体 (styrene trimer)	91, 117, 194, 207	14.54

m/z = 质荷比. m/z = mass to charge ratio.



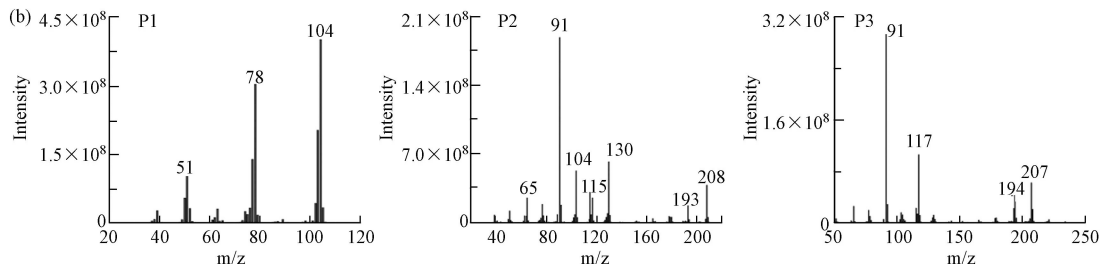


图 1 (a)为 PS 的总离子流(TIC)图和选定指示化合物的离子色谱图;(b)为 PS 特征裂解产物的质谱
Fig.1 (a) is the total ion current (TIC) and the ion chromatogram of selected indicator compounds of PS. (b) is the mass spectra of the characteristic pyrolysis products of PS

2.2 萃取条件的优化

2.2.1 浮选溶液的类型

为获得较高的回收率,本研究对浮选液类型进行了优化.研究了不同密度($1.2\text{--}1.8\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$)的 NaCl、NaI 和 ZnCl_2 溶液用于回收 PS 纳米塑料的优化^[47].结果如表 3 所示. NaI、 ZnCl_2 和 NaCl 溶液对粒径为 25 nm 的 PS 塑料的回收率分别为 $85.7\%\pm 5.3\%$ 、 $84.3\%\pm 4.8\%$ 和 $63.6\%\pm 4.5\%$.以 NaI ($1.8\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$) 和 ZnCl_2 ($1.6\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$) 为浮选溶质时 PS 纳米塑料的回收率高于以 NaCl ($1.2\text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$) 为浮选溶质时的回收率.以 NaI 和 ZnCl_2 溶液作为浮选溶液时的回收率没有显著差异.因此基于成本和回收率的综合考虑,最后选择 ZnCl_2 溶液作为浮选溶液.

表 3 不同浮选溶液条件下 PS 纳米塑料的回收率

Table 3 The recovery parameters of PS nanoplastics in different flotation solutions

浮选溶液 Flotation solution types	PS 添加浓度/ ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) PS spike concentration	检测浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) Detection concentration			回收率/% Recovery			平均回收率 (平均值 \pm SD ^a)/% Average recovery
		1	2	3	1	2	3	
NaCl	100	68.4	62.7	59.6	68.4	62.7	59.6	63.6 \pm 4.5
ZnCl_2	100	79.6	84.2	89.2	79.6	84.2	89.2	84.3 \pm 4.8
NaI	100	80.5	85.6	91.1	80.5	85.6	91.1	85.7 \pm 5.3

a: SD 为标准偏差. a: SD is the standard deviation.

2.2.2 消解液的类型和浓度

由于 H_2O_2 和 KOH 碱性溶液已被证明能有效地溶解环境中的有机质,所以研究了不同浓度的 H_2O_2 和 KOH 溶液对土壤中 PS 纳米塑料回收率的影响.结果如表 4 所示.结果表明,以 KOH 碱性溶液为消解液时的 PS 纳米塑料的平均回收率高于以 H_2O_2 为消解液时的 PS 纳米塑料的回收率. PS 纳米塑料的回收率随 H_2O_2 和 KOH 溶液浓度的增加而增加. KOH 溶液浓度从 2% 增加到 10% 时,回收率从 52.6% 增加到 81.6%.当 KOH 浓度为 15% 时, PS 纳米塑料的回收率较高(82.6%). 10% 和 15% KOH 溶液的回收率无显著差异.当 H_2O_2 浓度为 30% 时, PS 纳米塑料的最大回收率为 76.7%.因此,本实验选择 10% KOH 溶液作为消解液^[47].这些结果与早期的研究结果相符. Thiele 等^[48] 比较了此前其他研究中使用的消解技术,并推荐 KOH 作为暴露风险研究中最可行的消解方法. Karami 等^[49] 指出,用 10% KOH 溶液处理可以有效地消化生物材料,并且不会影响塑料聚合物的完整性.

表 4 不同类型、不同浓度消解液中 PS 纳米塑料的回收率参数

Table 4 The recovery parameters of PS nanoplastics in different types and concentrations of digestion liquid

消解溶液 Digestion solution	浓度/% Concentration	PS 添加浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) PS spike concentration	检测浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) Detection concentration			回收率/% Recovery			平均回收率 (平均值 \pm SD ^a)/% Average recovery
			1	2	3	1	2	3	
KOH	2	100	50.5	58.9	48.4	50.5	58.9	48.4	52.6 \pm 5.6
	5	100	54.9	63.7	60.6	54.9	63.7	60.6	59.7 \pm 4.5
	7	100	63.7	65.9	69.2	63.7	65.9	69.2	66.3 \pm 2.8

续表 4

消解溶液 Digestion solution	浓度/% Concentration	PS添加浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) PS spike concentration	检测浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) Detection concentration			回收率/% Recovery			平均回收率 (平均值 \pm SD ^a)/% Average recovery
			1	2	3	1	2	3	
			KOH	10	100	78.1	80.5	86.3	
	15	100	87.4	83.4	76.9	87.4	83.4	76.9	82.6 \pm 5.3
	5	100	46.3	41.9	38.4	46.3	41.9	38.4	42.2 \pm 4.0
	10	100	47.8	49.4	46.9	47.8	49.4	46.9	48.0 \pm 1.3
H ₂ O ₂	20	100	68.9	65.2	60.5	68.9	65.2	60.5	64.9 \pm 4.2
	30	100	77.4	76.8	75.9	77.4	76.8	75.9	76.7 \pm 0.75
	40	100	78.9	73.8	74.6	78.9	73.8	74.6	75.8 \pm 2.7

a: SD为标准偏差. a: SD is the standard deviation.

2.3 纳米塑料萃取的影响因素

2.3.1 纳米塑料的尺寸

以粒径为 25、100、800 nm 的 PS 纳米塑料为研究对象,考察了粒径对 PS 纳米塑料回收率的影响,结果见表 5. 结果表明,粒径为 25、100、800 nm 的 PS 纳米塑料回收率分别为 87.58% \pm 6.5%、88.88% \pm 7.7% 和 88.94% \pm 5.02%. 不同粒径时对 PS 纳米塑料的回收率影响不显著,说明粒径对提取方法的影响可以忽略不计.

表 5 不同粒径条件下 PS 纳米塑料的回收率($n=5$)Table 5 The recovery of PS nanoplastics with different particle sizes ($n=5$)

粒径尺寸/nm Particle sizes	PS添加浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) PS spike concentration	检测浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) Detection concentration					回收率/% Recovery					平均回收率 (平均值 \pm SD ^a)/% Average recovery
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
		25	100	88.5	94.3	92.6	78.2	84.3	88.5	94.3	92.6	
100	100	92.3	84.6	77.5	93.8	96.2	92.3	84.6	77.5	93.8	96.2	88.88 \pm 7.7
800	100	94.3	87.9	81.4	92.7	88.4	94.3	87.9	81.4	92.7	88.4	88.94 \pm 5.02

a. SD为标准偏差. a. SD is the standard deviation.

2.3.2 DOM 的浓度

为了研究不同浓度的 DOM 对 PS 纳米塑料回收的影响,本研究中采用了 5、10、20、40 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 DOM 溶液添加到土壤中进行实验. 结果如表 6 所示. 在不添加 DOM 的情况下, PS 纳米塑料的回收率为 87.1% \pm 6.3%. 在土壤中分别加入 5、10、20、40 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ DOM 溶液后, PS 纳米塑料的回收率分别为 86.8% \pm 6.8%、84.0% \pm 7.0%、86.0% \pm 6.9% 和 88.7% \pm 3.8%. 结果表明,在土壤中添加 DOM 对 PS 纳米塑料的回收率影响不大,说明 DOM 浓度对从土壤中提取纳米塑料方法的影响可以忽略不计. 这进一步证明了纳米塑料萃取方法的可靠性和稳定性.

表 6 不同 DOM 浓度下 PS 纳米塑料的回收率 ($n=5$)Table 6 The recovery of PS nanoplastics at different DOM concentrations ($n=5$)

DOM浓度/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) DOM Concentration	PS添加浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) PS spike concentration	检测浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) Detection concentration					回收率/% Recovery					平均回收率 (平均值 \pm SD ^a)/% Average recovery
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	
		0	100	85.6	78.9	90.4	84.9	95.8	85.6	78.9	90.4	
5	100	84.6	76.4	87.9	93.6	91.6	84.6	76.4	87.9	93.6	91.6	86.8 \pm 6.8
10	100	91.5	82.7	80.4	74.9	90.3	91.5	82.7	80.4	74.9	90.3	84.0 \pm 7.0
20	100	78.1	90.4	93.5	79.3	88.6	78.1	90.4	93.5	79.3	88.6	86.0 \pm 6.9
40	100	84.4	90.3	91.5	85.8	91.6	84.4	90.3	91.5	85.8	91.6	88.7 \pm 3.8

a. SD为标准偏差. a. SD is the standard deviation.

2.4 性能分析

测定了相对标准偏差(RSD)、相关系数(R^2)、检出限(LOD)和定量限(LOQ)等参数, 对其性能进行了评价. PS 纳米塑料的分析数据如表 7 所示. Py-GC-MS 重复检测 5 次 PS 纳米塑料的标准样品, 测得精密度为 7.04%. 该结果与 Steinmetz 等^[50]的研究结果一致, 他们发现测量重复性为 3.2%—7.2%. 如图 2 所示, PS 纳米塑料在 0.110 mg 范围内, 其校准曲线函数线性良好, R^2 为 0.9995. 此外, PS 的检出限为 3 倍信噪比($S/N = 3$), 为 0.012 μg , 定量限为 10 倍信噪比($S/N = 10$), 定量限为 0.04 μg . LOD 和 LOQ 的数据表明该仪器的灵敏度和适用性, 可用于纳米塑料的检测. 这些结果与 Duemichen 等^[51]的研究结果相似, PS 的仪器检测限为 3—200 ng, PE、PP 和 PET 的检测限为 0.5—50 g.

表 7 PS 纳米塑料相关校准数据

Table 7 Calibration related data for the PS nanoplastics

聚合物类型 Polymer type	PS
指示化合物 Indicator compound	styrene trimer
保留时间/min Retention time	14.54
指示离子 Indicator ion m/z	91
进样量范围/mg Sampling range	0.1—10
标准曲线方程 Calibration functions	$Y=4.35 \times 10^7 X - 3.69 \times 10^7$
R^2	0.9995
RSD/%,($n=5$)	7.04
LOD/ μg	0.012
LOQ/ μg	0.04

注: R^2 = 相关系数, RSD% = 相对标准偏差, LOD = 检出限, LOQ = 定量限, X = PS 的质量, Y = 色谱峰面积.

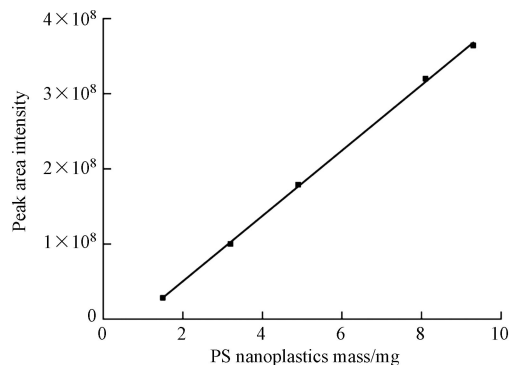


图 2 PS 纳米塑料的校准曲线

Fig.2 Calibration curve of PS nanoplastics

从土壤中萃取 PS 纳米塑料方法的性能分析, 准备 5 个 100 g 的土壤样品, 加入 $1 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 粒径为 25 nm PS 纳米塑料, 按照上述的萃取方法提取 PS 纳米塑料, 测定 5 个加标样品的回收率. 结果如表 8 所示, 通过计算得到 RSD 为 3.25%, 说明方法的重复性良好, 方法的检出限(MDL)为 $0.086 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 方法的定量限可达 $0.34 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$, 表明该方法的可靠性和灵敏性良好.

表 8 萃取 PS 纳米塑料方法的性能参数

Table 8 Performance parameters of extraction methods for PS nanoplastics

样品编号 Sample No.	PS 添加浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$ PS spike concentration	检测浓度/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$ Detection concentration	回收率/% Recovery
1	1	0.843	84.3
2	1	0.862	86.2

续表 8

样品编号 Sample No.	PS添加浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) PS spike concentration	检测浓度/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) Detection concentration	回收率/% Recovery
3	1	0.811	81.1
4	1	0.823	82.3
5	1	0.865	86.5
平均回收率(平均值 \pm SD)/%			84.02 \pm 2.73
RSD/%			3.25

2.5 方法评价及在实际土壤样品中的应用

为进一步验证该方法的可靠性,在6个土壤样品中加入 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 粒径为 25 nm PS 纳米塑料测定回收率.由表 9 可知,25 nm PS 纳米塑料在6个土壤样品中的回收率分别为 $87.5\% \pm 3.5\%$ 、 $82.4\% \pm 5.7\%$ 、 $79.6\% \pm 6.3\%$ 、 $88.3\% \pm 4.6\%$ 、 $77.8\% \pm 5.2\%$ 和 $82.6\% \pm 6.8\%$.因此,为了研究从土壤基质中提取纳米塑料方法的可行性,立即采集了6个实际土壤样品进行分析.土样详细情况见表 9,其中在4个样品中检测到 PS 塑料,浓度为 $3.45\text{--}10.26\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,辣椒大棚中的浓度最大为 $10.26\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,而在玉米地和黄豆地样品中没有检测到 PS 纳米塑料,这可能是因为它们浓度较小,低于检出限. Wahl 等^[3]首次提供了证据,证明在土壤基质中发现了纳米塑料,并覆盖了3种最常见的塑料类型:聚乙烯、聚苯乙烯和聚氯乙烯.这些结果证明了所提出的方法在复杂土壤基质中分析纳米塑料的能力和实用性.

表 9 土壤样品的测定结果

Table 9 Determination results of soil samples

样品名称 Sample name	采样位置坐标 Sampling coordinates	PS添加浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) PS spike concentration	检测浓度 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) Detection concentration	回收率/% Recovery
黄瓜大棚	41°46' N 123°52' E	0	3.45	87.5 \pm 3.5
		100	87.5	
西红柿大棚	41°48' N, 123°45' E	0	5.72	82.4 \pm 5.7
		100	82.4	
辣椒大棚	42°6' N, 123°32' E	0	10.26	79.6 \pm 6.3
		100	79.6	
玉米地	41°46' N, 123°52' E	0	N.D.	88.3 \pm 4.6
		100	88.3	
西瓜地	42°7' N, 123°30' E	0	9.71	77.8 \pm 5.2
		100	77.8	
黄豆地	41°33' N, 123°21' E	0	N.D.	82.6 \pm 6.8
		100	82.6	

N.D. 表示未检出. N.D. means not detected.

3 结论(Conclusions)

(1)本研究为土壤基质中纳米塑料分析提供了一种可行的方法.通过密度浮选、碱性消解和膜过滤等前处理过程,再采用 Py-GC-MS 进行检测,成功地对土壤基质中的纳米塑料进行了定性和定量分析.通过对 PS 塑料标准品的分析,测定重复性为 7.04% RSDs, LOD 为 $0.012\ \mu\text{g}$.对萃取方法的性能进行分析得到 RSD% 为 3.25%,方法的检出限为 $0.086\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$,结果表明了本研究方法具有良好的准确度和精密度,可用于纳米塑料的定量分析.

(2)通过对萃取条件的优化,选择 ZnCl_2 作为最佳的浮选溶质,10% KOH 溶液作为消解液.研究表明,纳米塑料粒径的大小和 DOM 的存在对土壤中纳米塑料的回收率几乎没有影响.

(3)在6个土壤样品中加入粒径为 25 nm 浓度为 $100\ \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 的 PS 纳米塑料测定回收率为 77.8%—

88.3%, 其中在 4 个样品中检测到 PS 塑料, 浓度为 3.45—10.26 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, 辣椒大棚中的浓度最大为 10.26 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. 说明了该技术是土壤系统中纳米塑料分析的一种有效可靠的方法.

参考文献 (References)

- [1] FRIAS J P G L, NASH R. Microplastics: Finding a consensus on the definition [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2019, 138: 145-147.
- [2] LIAN J P, WU J N, ZEB A, et al. Do polystyrene nanoplastics affect the toxicity of cadmium to wheat (*Triticum aestivum* L.)? [J]. *Environmental Pollution*, 2020, 263: 114498.
- [3] WAHL A, le JUGE C, DAVRANCHE M, et al. Nanoplastic occurrence in a soil amended with plastic debris [J]. *Chemosphere*, 2021, 262: 127784.
- [4] de SOUZA MACHADO A A, KLOAS W, ZARFL C, et al. Microplastics as an emerging threat to terrestrial ecosystems [J]. *Global Change Biology*, 2018, 24(4): 1405-1416.
- [5] PIEHL S, LEIBNER A, LÖDER M G J, et al. Identification and quantification of macro- and microplastics on an agricultural farmland [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 17950.
- [6] RICHARD H, CARPENTER E J, KOMADA T, et al. Biofilm facilitates metal accumulation onto microplastics in estuarine waters [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 683: 600-608.
- [7] ZHOU Y F, LIU X N, WANG J. Characterization of microplastics and the association of heavy metals with microplastics in suburban soil of central China [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 694: 133798.
- [8] RODRÍGUEZ-SEIJO A, SANTOS B, da SILVA E A F, et al. Low-density polyethylene microplastics as a source and carriers of agrochemicals to soil and earthworms [J]. *Environmental Chemistry*, 2019, 16: 8-17.
- [9] VELZEBOER I, KWADIJK C J A F, KOELMANS A A. Strong sorption of PCBs to nanoplastics, microplastics, carbon nanotubes, and fullerenes [J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(9): 4869-4876.
- [10] XU B L, LIU F, BROOKES P C, et al. Microplastics play a minor role in tetracycline sorption in the presence of dissolved organic matter [J]. *Environmental Pollution*, 2018, 240: 87-94.
- [11] HARATA K, KITAGAWA S, IIGUNI Y, et al. Identification of polymer species in a complex mixture by pyrolysis-gas chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-high resolution time-of-flight mass spectrometry as a basis for environmental microplastic analysis [J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2020, 148: 104828.
- [12] IVLEVA N P, WIESHEU A C, NIESSNER R. Microplastic in aquatic ecosystems [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2017, 56(7): 1720-1739.
- [13] de SOUZA MACHADO A A, LAU C W, KLOAS W, et al. Microplastics can change soil properties and affect plant performance [J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(10): 6044-6052.
- [14] NG E L, HUERTA LWANGA E, ELDRIDGE S M, et al. An overview of microplastic and nanoplastic pollution in agroecosystems [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 627: 1377-1388.
- [15] GUO J J, HUANG X P, XIANG L, et al. Source, migration and toxicology of microplastics in soil [J]. *Environment International*, 2020, 137: 105263.
- [16] YU L, ZHANG J D, LIU Y, et al. Distribution characteristics of microplastics in agricultural soils from the largest vegetable production base in China [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 756: 143860.
- [17] HARMS I K, DIEKÖTTER T, TROEGEL S, et al. Amount, distribution and composition of large microplastics in typical agricultural soils in Northern Germany [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 758: 143615.
- [18] SHEN M C, ZHANG Y X, ZHU Y, et al. Recent advances in toxicological research of nanoplastics in the environment: A review [J]. *Environmental Pollution*, 2019, 252: 511-521.
- [19] SANA S S, DOGIPARTHI L K, GANGADHAR L, et al. Effects of microplastics and nanoplastics on marine environment and human health [J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2020, 27(36): 44743-44756.
- [20] ZHOU X X, HAO L T, WANG H Y, et al. Cloud-point extraction combined with thermal degradation for nanoplastic analysis using pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Analytical Chemistry*, 2019, 91(3): 1785-1790.
- [21] ZHOU X X, HE S, GAO Y, et al. Quantitative analysis of polystyrene and poly(methyl methacrylate) nanoplastics in tissues of aquatic animals [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(5): 3032-3040.
- [22] SOBHANI Z, ZHANG X, GIBSON C, et al. Identification and visualisation of microplastics/nanoplastics by Raman imaging (i): Down to 100 nm [J]. *Water Research*, 2020, 174: 115658.
- [23] HERNANDEZ L M, XU E G, LARSSON H, et al. Plastic teabags release billions of microparticles and nanoparticles into tea [J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(21): 12300-12310.
- [24] GONZÁLEZ-PLEITER M, TAMAYO-BELDA M, PULIDO-REYES G, et al. Secondary nanoplastics released from a biodegradable microplastic severely impact freshwater environments [J]. *Environmental Science:Nano*, 2019, 6(5): 1382-1392.
- [25] FANG C, SOBHANI Z, ZHANG X, et al. Identification and visualisation of microplastics/nanoplastics by Raman imaging (ii): Smaller than the diffraction limit of laser? [J]. *Water Research*, 2020, 183: 116046.

- [26] GILLIBERT R, BALAKRISHNAN G, DESHOULES Q, et al. Raman tweezers for small microplastics and nanoplastics identification in seawater [J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(15): 9003-9013.
- [27] ZHANG W, DONG Z Q, ZHU L, et al. Direct observation of the release of nanoplastics from commercially recycled plastics with correlative Raman imaging and scanning electron microscopy [J]. *ACS Nano*, 2020, 14(7): 7920-7926.
- [28] CAI H W, XU E G, DU F N, et al. Analysis of environmental nanoplastics: Progress and challenges [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2021, 410: 128208.
- [29] GANGADOO S, OWEN S, RAJAPAKSHA P, et al. Nano-plastics and their analytical characterisation and fate in the marine environment: From source to sea [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 732: 138792.
- [30] PIVOKONSKY M, CERMAKOVA L, NOVOTNA K, et al. Occurrence of microplastics in raw and treated drinking water [J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 643: 1644-1651.
- [31] ZHENG S, ZHAO Y F, LIANGWEI W H, et al. Characteristics of microplastics ingested by zooplankton from the Bohai Sea, China [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 713: 136357.
- [32] MATERI\U0107 D, KASPER-GIEBL A, KAU D, et al. Micro- and nanoplastics in alpine snow: A new method for chemical identification and (semi)quantification in the nanogram range [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(4): 2353-2359.
- [33] RIBEIRO F, OKOFFO E D, O'BRIEN J W, et al. Quantitative analysis of selected plastics in high-commercial-value Australian seafood by pyrolysis gas chromatography mass spectrometry [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(15): 9408-9417.
- [34] KUSCH P. Challenges in the analysis of micro- and nanoplastics//Handbook of Microplastics in the Environments[M]. Cham: Springer International Publishing, 2022: 477-501.
- [35] SCHWAFERTS C, SOGNE V, WELZ R, et al. Nanoplastic analysis by online coupling of Raman microscopy and field-flow fractionation enabled by optical tweezers [J]. *Analytical Chemistry*, 2020, 92(8): 5813-5820.
- [36] JIMÉNEZ-LAMANA J, MARIGLIANO L, ALLOUCHE J, et al. A novel strategy for the detection and quantification of nanoplastics by single particle inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) [J]. *Analytical Chemistry*, 2020, 92(17): 11664-11672.
- [37] TER HALLE A, JEANNEAU L, MARTIGNAC M, et al. Nanoplastic in the north Atlantic subtropical gyre [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(23): 13689-13697.
- [38] OKOFFO E D, O'BRIEN S, RIBEIRO F, et al. Plastic particles in soil: State of the knowledge on sources, occurrence and distribution, analytical methods and ecological impacts [J]. *Environmental Science. Processes & Impacts*, 2021, 23(2): 240-274.
- [39] FISCHER M, SCHOLZ-BÖTTCHER B M. Microplastics analysis in environmental samples –recent pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry method improvements to increase the reliability of mass-related data [J]. *Analytical Methods*, 2019, 11(18): 2489-2497.
- [40] PATIL S M, RANE N R, BANKOLE P O, et al. An assessment of micro- and nanoplastics in the biosphere: A review of detection, monitoring, and remediation technology [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 430: 132913.
- [41] PENG C, TANG X J, GONG X Y, et al. Development and application of a mass spectrometry method for quantifying nylon microplastics in environment [J]. *Analytical Chemistry*, 2020, 92(20): 13930-13935.
- [42] ZHOU X X, HE S, GAO Y, et al. Protein *Corona*-mediated extraction for quantitative analysis of nanoplastics in environmental waters by pyrolysis gas chromatography/mass spectrometry [J]. *Analytical Chemistry*, 2021, 93(17): 6698-6705.
- [43] FADARE O O, WAN B, GUO L H, et al. Microplastics from consumer plastic food containers: Are we consuming it? [J]. *Chemosphere*, 2020, 253: 126787.
- [44] MITRANO D M, BELTZUNG A, FREHLAND S, et al. Synthesis of metal-doped nanoplastics and their utility to investigate fate and behaviour in complex environmental systems [J]. *Nature Nanotechnology*, 2019, 14(4): 362-368.
- [45] NGUYEN B, CLAVEAU-MALLET D, HERNANDEZ L M, et al. Separation and analysis of microplastics and nanoplastics in complex environmental samples [J]. *Accounts of Chemical Research*, 2019, 52(4): 858-866.
- [46] FISCHER M, SCHOLZ-BÖTTCHER B M. Simultaneous trace identification and quantification of common types of microplastics in environmental samples by pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(9): 5052-5060.
- [47] CAO J H, ZHAO X N, GAO X D, et al. Extraction and identification methods of microplastics and nanoplastics in agricultural soil: A review [J]. *Journal of Environmental Management*, 2021, 294: 112997.
- [48] THIELE C J, HUDSON M D, RUSSELL A E. Evaluation of existing methods to extract microplastics from bivalve tissue: Adapted KOH digestion protocol improves filtration at single-digit pore size [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2019, 142: 384-393.
- [49] KARAMI A, GOLIESKARDI A, CHOO C K, et al. A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 578: 485-494.
- [50] STEINMETZ Z, KINTZI A, MUÑOZ K, et al. A simple method for the selective quantification of polyethylene, polypropylene, and polystyrene plastic debris in soil by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry [J]. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 2020, 147: 104803.
- [51] DUEMICHEN E, EISENTRAUT P, CELINA M, et al. Automated thermal extraction-desorption gas chromatography mass spectrometry: A multifunctional tool for comprehensive characterization of polymers and their degradation products [J]. *Journal of Chromatography A*, 2019, 1592: 133-142.