

doi: 10.12452/j.fxcxb.26010701

尼罗红染色方法优化及HSV颜色模型在微塑料识别和定量中的应用

许奥翔¹, 郑继利^{1,2}, 邓显贺², 李亚军^{2*}, 朱军^{3*}

(1. 中国人民公安大学 侦查学院, 北京 100038; 2. 公安部鉴定中心, 北京 100038; 3. 公安部禁毒情报技术中心, 北京 100193)

摘要: 该文构建了标准化尼罗红(NR)染色检测方案, 系统评估了20种纯/混合溶剂中HSV颜色模型对6种常见食品接触材料微塑料的分类定量效果, 并探究了其对应微塑料荧光强度及斯托克斯位移的调控机制。经优化得到最优染色条件: 以丙酮-正己烷(3:1, 体积比)为染料载体, NR浓度10 μg/mL, 浸泡法染色。该条件可激发高荧光强度, 实现6种微塑料精准区分, 有效规避非塑料成分干扰, 视觉分辨率低至1.5 μm。该方法为环境微塑料检测及食品微塑料摄入风险评估提供了可靠技术支持。

关键词: 微塑料; 尼罗红; HSV颜色模型; 荧光; 食品接触材料

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)07-0001-07

Optimization of Nile Red Staining Method and Application of HSV Color Model in Microplastic Detection and Quantification

XU Ao-xiang¹, ZHENG Ji-li^{1,2}, DENG Xian-he², LI Ya-jun^{2*}, ZHU Jun^{3*}

(1. Institute of Investigation, People's Public Security University of China, Beijing 100038, China; 2. Institute of Forensic Science, Ministry of Public Security, Beijing 100038, China; 3. Institute of Anti-Narcotics Intelligence and Technology, Ministry of Public Security, Beijing 100193, China)

Abstract: Nile Red(NR) staining is widely used in the detection of microplastics (MPs) in environmental and food contact materials (FCMs). However, due to the lack of standards for staining parameters and the low accuracy of polymer classification based on RGB fluorescence characteristics, its universality and data comparability have been hindered. This study aims to establish a standardized NR staining detection protocol. Tests were conducted on 20 pure/mixed solvents. HSV color models were established for fluorescence classification and quantification to evaluate their effects on the fluorescence intensity and Stokes shift of common polymers. The optimized scheme (acetone/*n*-hexane 3:1 (by volume) as NR-carrier solvent, 10 μg/mL, immersion staining) has a high fluorescence intensity and can successfully distinguish six common polymers, with a detection limit as low as 1.5 μm. This study provides a rapid and standardized method for the classification and quantification of microplastics, laying the foundation for the detection of environmental microplastics and the risk assessment of food microplastic intake.

Key words: microplastics; Nile Red; HSV color model; fluorescence; food contact materials

塑料因低密度、低成本及高透明性等优势, 被广泛应用于包装、电子、建筑及农业等诸多领域。然而, 塑料产品在生产、使用与处置过程中, 经老化降解产生的微塑料(MPs, <5 mm)污染问题日趋严峻^[1-2], 已成为4大类新污染物之一。近十年来, 大量研究证实MPs广泛存在于农田、土壤、河流、海岸带及大气等环境介质中^[3], 甚至可在人体内脏、体液等组织中检出^[4-5]。相关研究已揭示MPs具备在人体中渗透与转运的能力^[6-8]; 尽管其毒理学机制尚未完全阐明, 但MPs在生物体内的蓄积可引发胃肠道阻塞、细胞毒性、DNA损伤、炎症反应及氧化应激等多种健康风险^[9-10]。饮食摄入是MPs进入人体

收稿日期: 2026-01-07; 修回日期: 2026-02-05

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2025JB012)

* 通讯作者: 李亚军, 博士, 副研究员, 研究方向: 理化检验, E-mail: lyjnumber1@126.com

朱军, 博士, 研究员, 研究方向: 理化检验, E-mail: zhujun001cn@126.com

的主要途径,相较于食品引入的塑料颗粒,食品接触材料(FCMs)通过接触、摩擦、老化或化学反应释放的MPs带来的摄入风险更受关注。

MPs的分析方法涵盖体视显微镜、扫描电子显微镜、傅里叶变换红外光谱及拉曼光谱等^[11-12]。这类方法虽应用广泛,但存在操作耗时费力、操作者主观判别标准差异易导致高假阳性率等局限^[13]。为提升MPs鉴定准确性,热分析技术如热重分析(TGA)、热萃取解吸(TED)及热解/气相色谱-质谱(Py/GC-MS)等被相继开发^[14]。然而,此类技术具有破坏性,难以同时实现MPs数量与形态的精准表征。针对上述问题,荧光染料选择性染色识别法因高效、便捷、特异性强的优势被广泛应用^[15]。尼罗红(NR)对塑料具有高吸附性与亲和性,其荧光强度高、染色耗时短,并具有良好的聚合物相容性^[16],且其在红外光谱区的选择性使之不易受干扰,可与后续光谱分析技术良好兼容^[17],已成为极具应用前景的MPs检测染料。

当前,NR染色检测MPs的关键参数(如载体溶剂、染料浓度、染色时间等)尚未形成标准化方案,这不仅阻碍了相关研究的技术协同,也导致不同研究的数据缺乏可比性^[13]。现有溶剂体系存在明显缺陷,例如, Lee等^[18]发现丙酮会导致某些非极性MPs降解并引发表面形变; Lee等^[19]证实氯仿可溶解聚碳酸酯过滤膜,甲醇则会显著降低NR染色MPs的荧光强度。为解决上述问题, Ho等^[20]提出使用丙酮-水混合溶剂体系作为溶剂载体,以缓解丙酮对聚合物的降解效应。由此可见,开发适用于NR染色的标准化溶剂体系是亟待攻克的关键问题,而不同塑料在不同溶剂体系中荧光特性与降解行为的差异,既增加了该问题的复杂性,也为实现塑料的精准分型提供了可能。

针对NR染色关键参数缺乏统一标准,以及基于RGB荧光特征的MPs分型准确性不足的问题,本研究系统评估了20种载体溶剂对6类常见FCMs材质(聚丙烯(PP)、聚乙烯(PE)、聚对苯二甲酸乙二醇酯(PET)、聚酰胺(PA)、聚氨酯(PU)、聚苯乙烯(PS))及3类天然干扰物(甲壳素、杨木粉、棉纤维)的分类识别与定量效果,并深入探究了不同溶剂体系中MPs的荧光强度、斯托克斯位移等荧光行为特征及其调控机制。

1 实验部分

1.1 材料

本实验所用6种无色聚合物(PA、PP、PE、PET、PS、PU),粒径为20~30目,均购自恒发塑料有限公司。3种天然干扰物质包括甲壳素(上海TCI有限公司)、杨木粉及棉纤维(淘宝)。45 μm 聚苯乙烯-二乙烯基苯(PS-DVB)乳胶珠悬浮液和1.5 μm PS-DVB乳胶珠悬浮液均购自北京海岸鸿蒙标准材料科技有限公司。实验溶剂甲醇(Met)、乙醇(Eth)、丙酮(Ac)、正己烷(Hex)、正辛烷(Oct)和氯仿(Chl),均为高效液相色谱级,购于国药化学试剂有限公司。尼罗红购自Sigma-Aldrich公司;实验用水为超纯水(W),由Milli-Q净水系统制备。

1.2 染色实验与分析方法

图1为NR染色检测微塑料的通用流程:采集土壤、大气等环境样本或食品、食品接触材料样本,经消解、浮选或迁移试验预处理后过滤,再依次进行NR染色、干燥处理,最终通过荧光成像与图像分析表征MPs的数量、粒径及形貌特征。

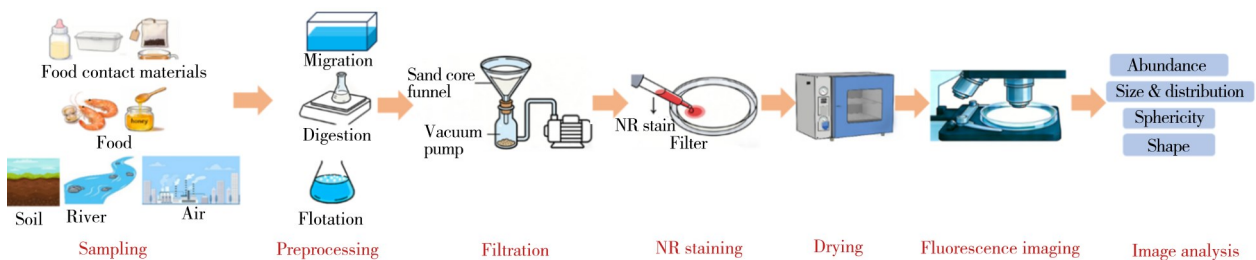


图1 NR染色检测微塑料的实验流程图

Fig. 1 Flowchart of NR staining for MPs detecting

本实验选取6种聚合物及3种天然干扰物为底物,评估不同溶剂体系的荧光染色效果。单溶剂体系以甲醇、乙醇、丙酮、正己烷、正辛烷、氯仿为NR载体;混合溶剂体系设丙酮/正己烷、丙酮/正辛

烷、丙酮/乙醇、丙酮/水、甲醇/正己烷5组，各组均按体积比1:3、1:1、3:1配制。为探究NR质量浓度对聚合物荧光强度的影响，将染料配制成1 000、100、10、1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 4个浓度梯度。

将9种底物分别置于洁净的圆形玻璃培养皿中，保证实验组MPs与干扰物的用量均一；取100 μL 染料溶液均匀涂布于底物表面，待染色反应完成、溶剂完全挥发后，用镊子将染色样品按PA-PP-PE-PET-PS-PU-甲壳素-杨木粉-棉纤维的顺序，逆时针排列于圆形滤纸上进行荧光成像。荧光成像采用广州明美科技有限公司MZX81型荧光显微镜，以蓝光(460~490 nm)为激发光源。条件优化实验中，显微镜放大倍数设为6.3，统一成像参数：曝光时间100 ms，增益强度5，图像分辨率4 088 \times 3 072像素，文件格式为JPG，激发强度设定为15%。鉴于吸附于MPs表面的NR易随时间解吸，本实验通过调控温度与浸泡时间延长荧光寿命，确定20~30目聚合物颗粒的最优染色条件为30 $^{\circ}\text{C}$ 下处理10 min，此条件下底物可充分染色且溶剂完全蒸发。

1.3 荧光特性量化分析

采用Photoshop软件的Lab色彩空间亮度通道，定量分析各MPs颗粒的平均荧光强度(FI)、标准差及中位数。Lab模式的L通道是独立的亮度通道，不受颜色影响，适合彩色荧光图像中需排除颜色偏差、精准提取亮度的场景，其与灰度值模型本质相同，可靠性及稳定性多有报道^[21-22]。HSV(Hue-Saturation-Value)是一种基于人眼颜色感知的三维颜色空间模型，其核心是将颜色分解为3个相互独立的维度，便于直观描述和量化荧光颜色差异。Hue(色相)表征颜色的本质属性，对应荧光的主导波长，以角度(0° ~ 360°)量化；Saturation(饱和度)反映荧光颜色的纯净度与鲜艳程度，取值范围为0%~100%；Value(明度)描述荧光的明亮程度，取值范围为0%~100%。针对HSV颜色模型参数的测定，利用软件“颜色采样器”工具选取MPs荧光颗粒的5个特征位点(上、中、下、最左、最右)进行采样，再通过色彩空间变换算法将采样点的RGB值转换为HSV值。

1.4 质量控制

实验设置阴性对照与阳性对照，以保障实验可靠性、计数准确性，并消除环境荧光干扰。阳性对照：分为两组实验。(1)回收率验证：向去离子水中加入10 μL 浓度为 2.01×10^5 粒/mL的45 μm PS-DVB乳胶珠悬浮液，经均质、过滤、染色后，采用ImageJ软件定量分析，计算MPs回收率；(2)染色灵敏度评估：向去离子水中加入10 μL 浓度为 5.42×10^9 粒/mL的1.5 μm PS-DVB乳胶珠悬浮液，经相同预处理后，通过荧光显微镜镜检分析，评估染色体系的检测灵敏度。阴性对照：将去离子水在与阳性对照实验相同的条件下真空过滤，滤膜经染色后计数荧光颗粒数，以此确定假阳性误差，消除NR固有荧光、环境粉尘等因素的干扰。

2 结果与讨论

2.1 溶剂对荧光行为的影响

实现MPs高效荧光染色与精准检测的理想染色体系需满足3项标准：(1)可对不同类型MPs实现高效染色，且染色后荧光信号强度显著；(2)最大限度降低溶剂对MPs的溶胀效应，避免微粒形态与粒径因溶剂作用发生改变，从而保障检测结果的准确性；(3)能够通过荧光信号有效捕获MPs因极性差异产生的Stokes位移，为MPs的聚合物分型提供可靠依据。据此，本研究从载体溶剂、染色方法、NR浓度及光照条件4个关键维度对染色体系进行优化。

6种微塑料与3种天然干扰材料的NR荧光染色结果如图2所示。依据“1.3”量化分析方法，计算得到9种材料的荧光强度(FI)，结果如图3所示。在5种纯溶剂体系中，氯仿介导的染色体系

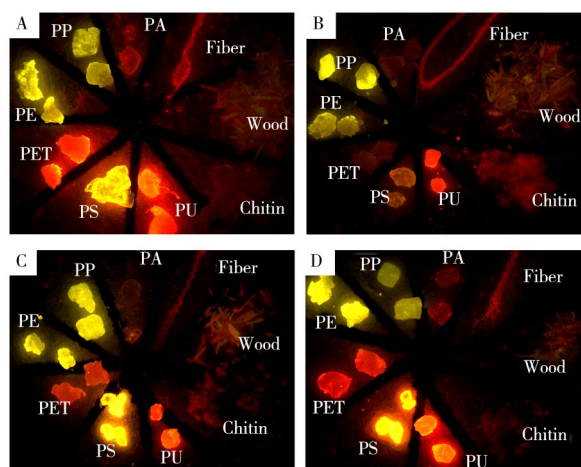


图2 NR染色后的MPs在不同载体溶剂中的荧光图像
Fig. 2 Fluorescence images of MPs after NR staining in different carrier solvents
A. chloroform; B. *n*-octane; C. acetone/*n*-octane(3:1); D. acetone/*n*-hexane(3:1)

平均 FI 最高 (166.8), 各溶剂体系的 FI 排序为: 丙酮 (145.8) > 正辛烷 (108.9) > 甲醇 (104.3) > 正己烷 (95.9)。已有研究表明, 溶剂极性对 NR 染色 MPs 的 FI 具有显著影响^[23], 理论上非极性溶剂可增强 NR 对 MPs 的染色能力, 进而提高 FI。但图 3 虚线所示结果与基于溶剂极性的预期趋势存在偏差: 溶剂极性 (以介电常数表征) 排序为甲醇 > 丙酮 > 氯仿 > 正辛烷 > 正己烷^[24]。这提示极性并非影响荧光强度的唯一因素, 氢键相互作用、塑料分子结构等其他因素也可能调控荧光强度。

聚合物与溶剂分子的相互作用可能影响 MPs 的 FI。在 5 种纯溶剂体系中, PP (平均 FI: 150.7) 和 PE (FI: 179.8) 的荧光强度较高且稳定性好。尽管多数 MPs 在氯仿中呈现强荧光, 但该溶剂会导致多种 MPs 发生不良降解, 尤其使含芳香族基团的 MPs (如 PS、PU) 完全溶解 (图 2A)。丙酮染色体系的 MPs 同样具有较强荧光, 其中 PA 的 FI 最低 (90.8); 但 PU、PS 等 MPs 在丙酮中出现明显溶胀, 导致粒径显著增大。甲醇染色体系未引起 MPs 明显溶胀, 但 PET (FI: 29.3) 和 PU (FI: 27.9) 的荧光几乎完全猝灭。正己烷与正辛烷染色效果一致性良好, 未观察到 MPs 显著溶胀 (图 2B); 但 PA 的荧光几乎猝灭 (FI: 19.4), PET 荧光仅轻微减弱且难以识别。

除荧光强度分析与聚合物降解表征外, 塑料极性对荧光诱导 Stokes 位移的调控作用亦不可忽视。图 4 系统呈现了不同溶剂与微塑料体系的 Stokes 位移特征, 其中溶剂与 6 种微塑料均按极性梯度排序; 引入 HSV 色彩空间中的 H (0° 代表红色、120° 代表绿色、240° 代表蓝色) 可直观强化极性效应的可视化分析与预测, 具体表现为微塑料极性越高, 荧光红移现象越显著。结果表明, 丙酮与氯仿两种溶剂能最精准地反映从 PP 到 PA 的极性诱导红移演变规律: 在丙酮体系中, 微塑料的色相角由 PP 的 49.25° (黄色) 转变为 PA 的 0.91° (红色), 差值达 48.34°; 在氯仿体系中, H 由 PP 的 53.08° (黄色) 转变为 PA 的 5.68° (红色), 差值为 47.4°。相比之下, 正己烷与正辛烷体系中 PA 和 PET 的荧光猝灭现象明显, 限制了其在微塑料极性表征中的独立应用价值。

三角能量分析 (TEA) 图可将溶解度相互作用的 3 类基本作用力: 氢键力 (f_h)、极性力 (f_p) 和色散力 (f_d) 至三角坐标系, 直观表征各作用力对 Hildebrand 溶解度参数的贡献占比^[25]。该图通过呈现溶剂与聚合物的相对位置关系, 可实现溶剂-聚合物相互作用的全面评估。图 5 结果显示, 三氯甲烷的 TEA 特征参数与 PU、PS 更为接近, 表明二者间存在高度化学相容性, 这也是三氯甲烷对 PU 和 PS 产生显著溶解作用的主要原因。丙酮具备与高极性溶剂水、中极性溶剂乙醇及非极性溶剂复配的潜力; 结合图 5 分析可知, Ac/Hex、Ac/Oct 混合体系的 TEA 特征参数与 6 种微塑料分子的匹配度显著优于纯丙酮, 体现出更强的化学相似性。反观 Ac/Eth、Ac/W 及 Met/Hex 混合体系, 其与 6 种微塑料分子的匹配度较低, 不仅诱导产生的平均荧光强度偏低, 且无法有效表征微塑料极性差异引发的斯托克斯位移变化。

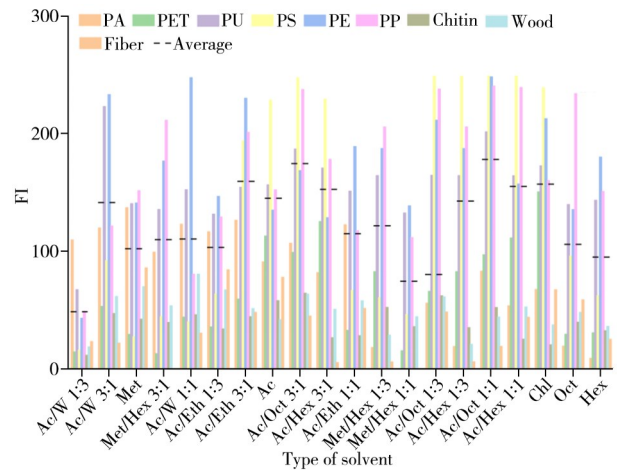


图 3 各种物质在不同溶剂下的荧光强度 (黑色虚线代表 6 种塑料的平均 FI)

Fig. 3 Fluorescence intensity of various substances under different solvents (the black dashed line represents the average FI of six plastics)

Solvent \ MPs	PA	PET	PU	PS	PE	PP
Ac/W 1:3	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red
Ac/W 3:1	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Met	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Met/Hex 3:1	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Ac/W 1:1	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Ac/Eth 1:3	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Ac/Eth 3:1	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Ac	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Ac/Oct 3:1	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Ac/Hex 3:1	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Ac/Eth 1:1	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Met/Hex 1:3	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Met/Hex 1:1	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Ac/Oct 1:3	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Ac/Hex 1:3	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Ac/Oct 1:1	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Ac/Hex 1:1	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Chl	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Oct	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow
Hex	Red	Dark Red	Dark Red	Dark Red	Yellow	Yellow

图 4 NR 染色后 MPs 的 HSV 颜色 (按极性排列)

Fig. 4 HSV color representation of NR-stained MPs arranged by polarity

基于NR分子在Ac/Hex与Ac/Oct混合体系中可实现高效溶解的特性,可推断该体系中NR分子更易从溶剂相迁移至微塑料表面,进而显著提升荧光强度。综合评估5种混合溶剂的性能可知,Ac/Hex与Ac/Oct混合体系兼具荧光信号强、微塑料降解程度低的优势(图2C、2D),因此被选定为后续研究的候选溶剂。

2.2 Ac/Hex和Ac/Oct体系混合比例优化

为优化Ac/Hex与Ac/Oct混合溶剂的体积配比,本研究设置1:3、1:1、3:1三个梯度开展实验。结合图6A与图6B的H值数据分析可知,6种MPs在两种混合溶剂体系中可依据H值划分为3类:PA与PET处于0~20°,呈现红色;PU处于25~45°,呈现橙色;PP、PE与PS处于45~60°,呈现黄色。上述结果表明,基于H值的定量染色法可实现微塑料的初步分类,但对视觉色彩相近的PP、PE、PS及PA、PET的精准鉴别仍存在挑战。

为进一步区分色彩特征相似的微塑料,图6C与图6D对6种微塑料在不同混合比例下的V值进行量化分析。V值与微塑料的荧光强度呈直接正相关,分析结果显示:PS与PU的V值在两种混合溶剂体系中均保持较高水平且稳定性良好,表明二者可稳定发射强黄色与强橙色荧光;随着混合溶剂中丙酮体积占比的提升,PA与PET的V值均显著增大,这归因于溶剂极性增强后,PA、PET与溶剂极性的匹配度提升,进而增强了与NR分子的相互作用,最终实现荧光信号的强化。

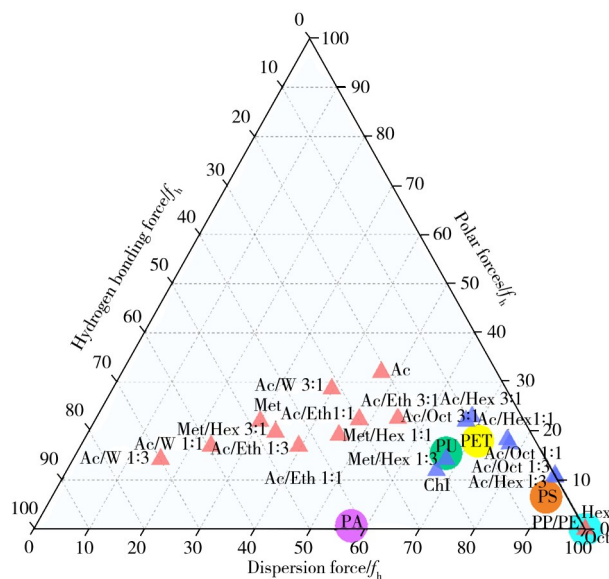


图5 溶剂类别及其聚合物溶解度窗的三角能量分析(TEA)图(溶剂用三角形表示,塑料用彩色圆圈表示)

Fig. 5 Triangular energy analysis(TEA) graph illustrating solvent class and its polymer solubility windows(solvents are represented by the triangle and the plastics are represented in colored circles)

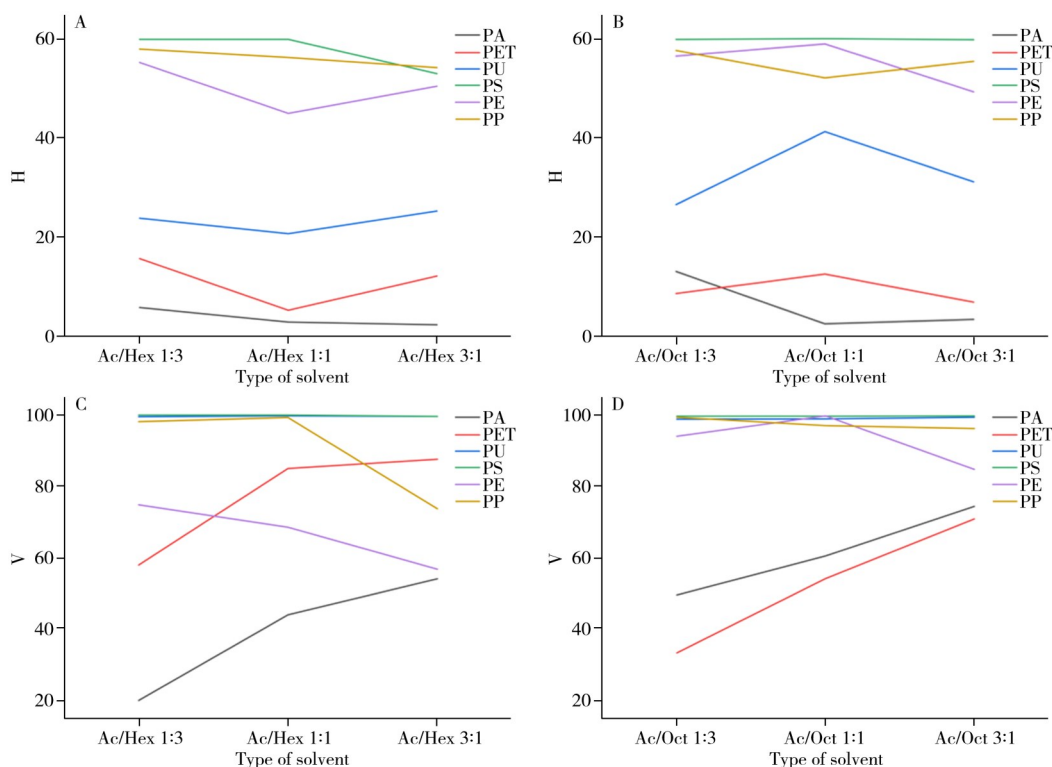


图6 Ac/Hex和Ac/Oct作用下NR染色MPs的H值(A~B)和V值(C~D)

Fig. 6 H-value(A~B) and V-value(C~D) of NR-stained MPs under Ac/Hex and Ac/Oct

在 Ac/Hex 体系中, 丙酮占比的增加会导致 PP 与 PE 的值呈下降趋势; 当丙酮体积分数达到 75% 时, PP 与 PE 的荧光发射强度显著减弱, 而 PS 的荧光强度无明显变化。结合图 2C 可知, 该配比可实现 PP/PE 与 PS 的可视化精准区分, 同时 PA 与 PET 间的荧光强度差异也可满足二者的鉴别需求。与之不同的是, Ac/Oct 体系中溶剂配比的改变对 V 值无显著影响, 难以实现 PS 与 PP/PE 的有效区分。

表 1 展示了以丙酮: 正己烷(3: 1)作为 NR 溶剂时, 微塑料荧光的 HSV 和 RGB 值, 及基于 RGB 值计算的荧光指数 $(R+G)/R$ ^[26]。通过分析发现, 极性聚合物(如 PA、PET)的荧光偏向橙红色, R 通道数值相对更高, G 通道数值较低, 荧光指数更接近 1。疏水性聚合物(如 PE、PP、PS)的荧光偏向黄橙色, G 通道数值相对更高, R 通道数值较低, 荧光指数大于 1。虽然荧光指数说明 RGB 模型可初步实现微塑料极性分类, 但 RGB 颜色模型量化微塑料荧光具有以下局限性: (1) 仅能将微塑料分为“极性”和“疏水性”两大类, 无法区分同一类别内的具体聚合物(如无法区分 PE 与 PP, 或 PA 与 PET); (2) 荧光强度与颜色信息耦合在 R、G、B 三通道中, 照明条件波动、滤膜背景信号等易导致数值失真, 需额外进行背景扣除、标准化成像等预处理, 增加操作复杂度; (3) RGB 通道数值为混合亮度信号, 无法直观反映极性诱导的荧光波长红移/蓝移, 仅提取 R 和 G 通道数值而未利用 B 通道, 可能丢失与聚合物极性相关的部分荧光颜色信息, 限制了分类的精细度。

表 1 微塑料荧光的 HSV 和 RGB 值(丙酮: 正己烷(3: 1)作为 NR 溶剂)

Table 1 HSV and RGB values of microplastic fluorescence (acetone: n-hexane(3: 1) as the NR solvent)

MPs	H/S/V	R/G/B	(R+G)/R	Categorize
PA	2. 2/98. 97/54. 11	138/6/1	1. 043	Hydrophilicity
PET	12. 06/99. 31/87. 61	223/46/2	1. 206	Hydrophilicity
PU	25. 23/98. 12/99. 61	254/109/5	1. 429	Hydrophilicity
PS	53. 06/99. 61/99. 61	254/225/1	1. 886	Hydrophobicity
PE	50. 5/99. 06/56. 78	145/122/1	1. 828	Hydrophobicity
PP	54. 26/97. 19/73. 73	188/169/5	1. 867	Hydrophobicity

综上, 当丙酮: 正己烷的体积比为 3: 1 时, 可实现 6 种微塑料的高效鉴别: PS 与 PU 分别呈现强黄色与强橙色荧光, PP 与 PE 呈现中度黄色荧光, PET 呈现中度红色荧光, PA 则呈现弱红色荧光, 为最佳 NR 载体溶剂。

2.3 染色方法验证

NR 浓度过高易引发荧光猝灭与背景干扰, 浓度过低则难以保证多数微塑料的荧光强度。本研究经反复试验, 最终确定 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 为最优染色浓度, 该浓度可实现多种微塑料的高效染色, 且对木屑、甲壳素等基质干扰物的荧光信号影响微乎其微。

相较于易产生背景干扰与滤膜染料残留的悬浮法, 本实验采用浸泡法进行染色, 通过干燥处理显著降低背景荧光强度, 同时实现微塑料荧光信号的清晰增强。光照条件优化结果表明, 蓝光强度 15% 为最优参数, 该强度既可保证微塑料荧光强度处于适宜检测区间, 又能有效规避高强度蓝光导致的信号过曝问题, 以及低强度蓝光引发的微弱信号丢失现象, 可实现背景与目标微塑料荧光信号的精准区分, 适用于荧光强度的定量测定。

为保障预处理与染色结果的一致性, 本研究设置阴性对照与阳性对照实验。阳性对照采用 45 μm PS-DVB 乳胶微球, 结合对照实验与精细计数技术, 经 Image J 软件荧光图像分析可得回收率达 91%(图 7A); 此外, 该染色体系可成功实现 1.5 μm PS-DVB 乳胶微球的染色与视觉分辨(图 7B), 证实其在微量、小粒径微塑料检测中具有灵敏度优势。针对溶剂残留、环境粉尘等因素导致的背景荧光干扰问题, 本研究设置阴性对照实验, 在相同条件下对空白溶剂体系进行染色与成像, 可实现假

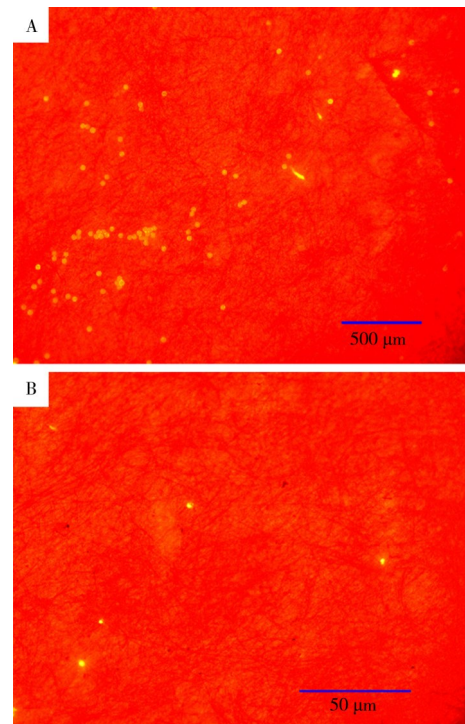


图 7 NR 染色 PS-DVB 的荧光图像
Fig. 7 Fluorescent images of NR-stained PS-DVB MPs
A. 45 μm (magnification 20X), B. 1.5 μm (magnification 40X)

阳性误差的量化分析,保障微塑料计数结果的准确性。

3 结 论

本研究构建了一套快速、经济且标准化的尼罗红染色方法,实现了微塑料的定性鉴别与定量分析。为优化NR染色体系,系统考察了单一及混合溶剂共20种载体对PA、PET、PU、PS、PP和PE 6种典型聚合物荧光特性与结构完整性的影响规律。结果表明,最优实验条件为以丙酮-正己烷混合溶剂(体积比3:1)为染料载体、NR浓度10 $\mu\text{g/mL}$ 、采用浸泡染色法。该体系可在最大化6种目标聚合物荧光信号辨识度与差异性的同时,显著降低背景荧光干扰,最终实现微塑料的精准分类与定量检测。

虽然尼罗红染色法因快速、低成本受到青睐,但在复杂的真实基质中,环境干扰是最难克服的挑战,若不采取有效的预处理和全程质控,极易导致结果的高估或错误判断。需特别注意一些干扰风险:(1)环境基质干扰:虽然本研究考虑了甲壳素、木粉和棉等非塑料物质的干扰,但是环境中的有机物、微生物或天然颗粒种类繁多,常被误染为微塑料,导致假阳性,此时消解等前处理尤为重要;(2)操作与设备交叉污染,实验室本身或操作过程引入的外源性微塑料污染,需制定严格的质量保证措施。

参考文献:

- [1] Du H, Xie Y Q, Wang J. *J. Hazard. Mater.*, **2021**, 418: 126377.
- [2] Thompson R C, Olsen Y, Mitchell R P, Davis A, Rowland S J, John A W G, McGonigle D, Russell A E. *Science*, **2004**, 304(5672): 838.
- [3] Thompson R C, Courteney-Jones W, Boucher J, Pahl S, Raubenheimer K, Koelmans A A. *Science*, **2024**, 386(6720): ead12746.
- [4] Li Y, Tao L, Wang Q, Wang F B, Li G, Song M Y. *Environ. Health*, **2023**, 1(4): 249-257.
- [5] Abbasi S, Turner A. *J. Hazard. Mater.*, **2021**, 403: 123799.
- [6] Baeza-Martínez C, Olmos S, González-Pleiter M, López-Castellanos J, García-Pachón E, Masiá-Canuto M, Hernández-Blasco L, Bayo J. *J. Hazard. Mater.*, **2022**, 438: 129439.
- [7] Horvatits T, Tamminga M, Liu B B, Sebode M, Carambia A, Fischer L, Püschel K, Huber S, Fischer E K. *eBioMedicine*, **2022**, 82: 104147.
- [8] Leslie H A, van Velzen M J M, Brandsma S H, Vethaak A D, Garcia-Vallejo J J, Lamoree M H. *Environ. Int.*, **2022**, 163: 107199.
- [9] Hussain K A, Romanova S, Okur I, Zhang D, Kuebler J, Huang X, Wang B, Fernandez-Ballester L, Lu Y F, Schubert M, Li Y S. *Environ. Sci. Technol.*, **2023**, 57(26): 9782-9792.
- [10] Zhang H, Xie Y Q, Chen Z, Dong M, Liu S Q. *J. Instrum. Anal.* (张衡, 谢依侨, 陈智, 董猛, 刘舒芹. 分析测试学报), **2025**, 44(8): 1547-1556.
- [11] Xu J L, Thomas K V, Luo Z S, Gowen A A. *TrAC Trends Anal. Chem.*, **2019**, 119: 115629.
- [12] Xu C, Liang Y, Zhu X Y, Dong B, Su Q Z, Wang X H, Li D, Zhong H N. *J. Instrum. Anal.* (徐灿, 梁约, 朱晓艳, 董犇, 苏启枝, 王小慧, 李丹, 钟怀宁. 分析测试学报), **2025**, 44(12): 2649-2656.
- [13] Schwaferts C, Niessner R, Elsner M, Ivleva N P. *TrAC Trends Anal. Chem.*, **2019**, 112: 52-65.
- [14] Singh B, Kumar A. *TrAC Trends Anal. Chem.*, **2024**, 170: 117440.
- [15] Sturm M T, Horn H, Schuhen K. *Anal. Bioanal. Chem.*, **2021**, 413(4): 1059-1071.
- [16] Prata J C, Reis V, Matos J T V, da Costa J P, Duarte A C, Rocha-Santos T. *Sci. Total Environ.*, **2019**, 690: 1277-1283.
- [17] Ho D, Liu S D, Wei H R, Karthikeyan K G. *Microchem. J.*, **2024**, 197: 109708.
- [18] Lee H B, Lee K S, Kim S J, Choi B I, Go B R, Rhu C J, Han T H. *Polymers*, **2022**, 14(20): 4353.
- [19] Lee S, Lee T G. *Sci. Rep.*, **2021**, 11(1): 18074.
- [20] Ho D, Masura J. *Colorants*, **2025**, 4(2): 20.
- [21] Shruti V C, Pérez-Guevara F, Roy P D, Kutralam-Muniasamy G. *J. Hazard. Mater.*, **2022**, 423: 127171.
- [22] Brunner J, Krummenauer F, Lehr H A. *Microcirculation*, **2000**, 7(2): 103-107.
- [23] Shim W J, Song Y K, Hong S H, Jang M. *Mar. Pollut. Bull.*, **2016**, 113(1/2): 469-476.
- [24] Gu C H, Li H, Gandhi R B, Raghavan K. *Int. J. Pharm.*, **2004**, 283(1/2): 117-125.
- [25] Kuntz Jr I D, Gasparro F P, Johnston Jr M D, Taylor R P. *J. Am. Chem. Soc.*, **1968**, 90(18): 4778-4781.
- [26] Maes T, Jessop R, Wellner N, Haupt K, Mayes A G. *Sci. Rep.*, **2017**, 7: 44501.

(责任编辑: 盛文彦)