

doi: 10.12452/j.fxcxb.26042707

纳塑料的超分辨光学成像研究进展

陈凯佳¹, 谢一鸣¹, 严诸颖², 严秀平³, 郝放^{1*}, 王震宇¹

(1. 江南大学 环境与生态学院, 环境过程与污染控制研究所, 江苏 无锡 214122; 2. 江南大学 分析测试中心, 江苏 无锡 214122; 3. 江南大学 食品学院, 分析食品安全学研究所, 江苏 无锡 214122)

摘要: 纳塑料广泛存在于环境介质中, 因其粒径微小、极易穿透生物屏障的特性, 对生态系统和人类健康构成严重威胁。对纳塑料进行高分辨率的精准成像, 解析其与生物界面的相互作用, 是阐明纳塑料环境行为和生物效应的关键。然而, 传统光学成像技术受光学衍射极限制约, 大多无法分辨尺寸小于1 μm的单颗粒纳塑料, 且复杂环境与生物基质的背景干扰会进一步降低成像信噪比, 难以实现复杂体系下纳塑料的高分辨精准成像。超分辨光学成像技术可突破光学衍射极限, 实现纳米级空间分辨率, 已成为解析纳米材料与界面相互作用的重要技术, 有望在纳塑料精准示踪中发挥重要作用。鉴于此, 该文在系统收集和梳理国内外相关文献的基础上, 将纳塑料超分辨光学成像技术划分为两大类, 即基于荧光标记的超分辨荧光显微成像技术与无标记超分辨成像技术, 综述了超分辨光学成像技术在纳塑料研究中的进展, 并对其未来发展趋势进行展望, 以期推进纳塑料超分辨成像检测体系的建立, 助力其环境污染风险评估与管控。

关键词: 纳塑料; 环境风险; 高分辨; 超分辨光学成像

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-4957(2026)07-1428-09

Research Progress on Super-resolution Optical Imaging of Nanoplastics

CHEN Kai-jia¹, XIE Yi-ming¹, YAN Zhu-ying², YAN Xiu-ping³, HAO Fang^{1*}, WANG Zhen-yu¹

(1. Institute of Environmental Processes and Pollution Control, School of Environment and Ecology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 2. Analysis and Testing Center, Jiangnan University, Wuxi 214122, China; 3. Institute of Analytical Food Safety, School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: Nanoplastics are ubiquitously present in environmental media. Owing to their nanoscale particle size and exceptional ability to penetrate biological barriers, they pose a severe threat to ecosystems and human health. High-resolution and precise imaging of nanoplastics, as well as the elucidation of their interactions with biological interfaces, is the key to clarifying the environmental behavior and biological effects of nanoplastics. However, conventional optical imaging techniques are fundamentally constrained by the optical diffraction limit, which renders them incapable of resolving individual nanoplastics below 1 μm. Furthermore, the background interference originating from complex environmental and biological matrices further decreases the imaging signal-to-noise ratio (SNR), making it extremely challenging to achieve high-resolution and accurate imaging of nanoplastics in complex systems. Super-resolution optical imaging techniques can break through the optical diffraction limit and achieve nanoscale spatial resolution. They have emerged as pivotal tools for deciphering the interactions between nanomaterials and interfaces, and hold significant promise for precise tracking of nanoplastics. In view of this, based on the systematic collection and collation of relevant domestic and international literature, this paper categorizes super-resolution optical imaging techniques for nanoplastics into two major classes: fluorescence labeling-based super-resolution fluorescence microscopy and label-free super-resolution imaging techniques. It comprehensively reviews the advances of super-resolution optical imaging techniques in nanoplastics research and prospects their future development trends, with the aim of promoting the establishment of a super-resolution imaging detec-

收稿日期: 2026-04-27; 修回日期: 2026-05-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(42192572, 22206063); 江苏省基础研究计划资助(BK20243048); 江苏省自然科学基金青年基金项目(BK20221101)

* 通讯作者: 郝放, 博士, 副研究员, 研究方向: 环境分析与毒理, E-mail: fanghao@jiangnan.edu.cn

网络首发日期: 2026-06-02

tion system for nanoplastics and supporting the assessment and management of their environmental pollution risks.

Key words: nanoplastics; environmental risk; high-resolution; super-resolution optical imaging

塑料是现代不可或缺的重要材料, 近几十年来其产量呈指数级增长, 由此引发的塑料污染问题已成为全球性的环境挑战^[1]。塑料废弃物在自然环境中经过物理磨损、生物降解和化学氧化等过程, 逐渐分解成尺寸小于5 mm的微塑料(MPs)和尺寸小于1 μm的纳塑料(NPs)^[2-4]。纳塑料(NPs)凭借小粒径和大比表面积, 具有较强的跨介质迁移能力, 对生态系统和人体健康构成巨大威胁^[5]。

微/纳塑料(MNPs)广泛分布于全球水体、土壤、大气等环境介质, 甚至在极地、深海及远洋水体等偏远区域也有检出。Shi等^[6]综述了全球不同水环境中NPs的赋存水平, 结果显示, 淡水环境中NP的浓度范围为0.1~488 μg/L, 其中泰国Chi River水体中的NPs浓度可达189~488 μg/L; 在海洋环境中, 荷兰Wadden Sea中的PS-NPs浓度为2.7~6.5 μg/L, 南极海冰中的NPs浓度为37.7~67.0 μg/L, 表明NPs已存在于淡水、海水和极地冰体中。除水环境外, Li等^[7]在土壤、沉积物和污泥等固体环境基质中检测到小粒径MNPs, 质量浓度为4.6~51.4 μg/g, 提示陆地也是NPs的重要汇。富集于环境介质中的NPs可通过水体循环、大气沉降和沉积物再悬浮等过程实现迁移, 并可能随食物链传递进入生物体, 进而对生态系统稳定性和生物地球化学循环产生潜在影响。

人体主要经呼吸道吸入、消化道摄入和皮肤接触等途径暴露于NPs。现有研究已证实, NPs能穿透血脑屏障、胎盘屏障等多种生物屏障进而在人体血液、胎盘、肝脏、肾脏甚至大脑累积^[5, 8]。NPs在靶器官中累积后可诱发氧化应激、慢性炎症、细胞毒性与基因毒性, 干扰神经、免疫、生殖等多系统功能。最新临床证据还显示其与认知损伤、神经退行性病变的发生发展密切相关^[8-10]。此外, NPs可作为环境中重金属、持久性有机污染物的载体, 产生协同毒性效应, 进一步加剧健康风险^[5, 11]。

生物体内NPs的精准成像和原位表征是准确评估其健康风险的前提。受限于当前成像示踪技术, NPs在复杂环境与生物体系中的迁移转化规律、界面作用机制及毒性效应通路仍不清楚。基于文献计量学的研究发现, 2012年以来生物体内MNPs成像与定量分析的相关研究虽经历了起步期、快速增长期与爆发期, 年发文量持续攀升, 但研究主体仍以MPs为主, 关键词共现结果显示, 核心关键词“microplastics”频次达94次, 而与NPs相关的关键词频次仅为48次, 二者存在显著差距^[12]。与之对应的是, 生物体内NPs的相关研究远远滞后于MPs, 针对NPs的成像仍存在分辨率不足的核心瓶颈, NPs与生物界面的相互作用机制以及其引发的毒性机制均因缺乏相应的原位高分辨成像表征技术而处于未知, 是当前毒理学研究亟待解决的关键问题。光学成像作为一种非侵入性且操作便捷的表征技术, 既可利用无标记模式对MNPs的特征信号进行成像, 也可结合特异性标记和识别策略, 实现MNPs的原位实时空间分布与动态过程成像, 成为探究MNPs环境行为与生物效应的重要方法^[13]。然而, 传统光学成像技术在示踪NPs时面临显著局限性, 难以分辨尺寸小于光学衍射极限(约200 nm)的NPs, 这使得NPs的精准识别和定位成为一项巨大挑战^[14]。此外, 生物组织和复杂环境基质也常常导致背景干扰, 进一步降低了成像的信噪比和分辨率。这些限制使得传统光学成像方法难以实现MNPs的高分辨原位表征与定量分析, 阻碍了对其环境行为和生物效应的研究。

超分辨光学成像技术(Super-resolution optical imaging)的出现, 为突破传统光学显微镜的衍射极限提供了革命性的解决方案。超分辨光学成像技术将空间分辨率提升至数十纳米甚至更低的水平, 实现了亚细胞和分子水平的精细动态成像, 既能弥补传统光学显微镜无法分辨单颗粒NPs的短板^[15], 又能解决电子显微镜样品制备繁琐、无法对NPs进行连续动态观察的局限^[16], 为NPs的精准原位识别提供了支撑, 成为推动NPs环境行为与生物效应研究的关键工具。值得注意的是, 现有相关综述多关注MPs的成像与分析方法, 尚未聚焦NPs成像这一核心研究难点, 更未有系统性阐述NPs超分辨光学成像技术的相关综述报道。本文依据成像过程中是否引入荧光标记, 将超分辨光学成像技术划分为超分辨荧光显微成像技术与无标记超分辨成像技术两大类。其中, 散射型暗场超分辨、干涉成像、近场显微等无标记超分辨技术目前在NPs研究中应用极少、尚未形成成熟的技术体系, 本文重点论述应用广泛且技术体系完善的基于拉曼散射和红外光谱的两类无标记超分辨成像技术, 分别阐述了这些技术在NPs成像研究领域的应用进展。

1 超分辨荧光显微成像技术

光学理论与荧光分子探针技术的飞速发展,催生了超分辨荧光显微成像技术。该技术突破了传统光学成像的衍射极限,实现了纳米尺度微观细节的可视化,其相关开创性成果斩获 2014 年诺贝尔化学奖。目前,该领域的主流技术路径包括受激发射损耗显微镜(STED)^[17]、单分子定位显微镜(SMLM)^[18-19]以及结构光照明显微镜(SIM)^[20]。

1.1 荧光显微镜的分辨率

在经典波动光学理论框架下,点光源发出的光波经光学系统衍射后会形成艾里斑,当两个物点的艾里斑严重重叠时系统无法区分,这就是传统光学显微镜的衍射极限(横向约 200 nm,轴向约 500 nm)^[21-22]。成像系统的分辨率可通过点扩散函数(PSF)定量描述,其特征参数直接决定成像性能。

超分辨荧光成像技术的核心性能指标除分辨率外,还包括光漂白与光毒性、成像速度、标记兼容性等。光漂白指荧光分子在激发光照射下不可逆失去发光能力的现象,会导致信号衰减与图像失真;光毒性则是成像过程中由激发光持续照射引起的生物样品损伤,直接决定活体成像的可行性和成像结果的准确度。上述指标是评价各类超分辨荧光成像技术适用场景的关键依据。

1.2 受激发射损耗显微镜

受激发射损耗显微镜同步使用两束激光进行成像,高斯光斑形态的激光可使衍射极限区域内的荧光分子被激发,空心环状的损耗光则依托受激发射原理,强制环形区域内的激发态分子回落至基态并抑制其荧光发射,仅光束中心极小区域内的分子能够正常发光,由此形成尺寸远小于衍射极限的有效荧光点,再通过逐点扫描样品的方式,即可直接获得超分辨图像^[23]。Nguyen 等^[14]以 Atto 647N 为荧光标签,开发了 3 种适用于 STED 超分辨显微镜的 NPs 荧光标记策略,与共聚焦成像相比,能够实现单颗粒 NPs 成像(图 1A)。其中,被动吸附法将 NPs 与 Atto 647N 直接混合孵育,通过透析去除游离染料完成标记;溶胀掺入法借助加热或添加四氢呋喃使聚合物溶胀,在染料扩散进入 NPs 基质后冷却,经透析或离心去除杂质;共价偶联法则利用 N-羧基琥珀酰亚胺(NHS)活化的 Atto 647N 与氨基化 NPs 发生酰胺化反应,完成标记。在纯水、矿物油、土壤水、食虫植物消化液、强酸(pH 2.5)及高温(40 °C)等多种环境与生物介质中验证标记方法的稳定性后,以秀丽隐杆线虫为模式生物开展 NPs 的 STED 成像,实现了 50 nm NPs 在线虫口腔、咽道和肠道的单颗粒定位。Sioen 等^[24]针对海洋微藻中 NPs 荧光成像面临自发背景荧光干扰的瓶颈,优化了基于 IDye 染料的多类型 MNP 溶胀标记法,创新性耦合 STED 超分辨显微技术与荧光寿命成像(FLIM),首次实现了 NPs 荧光信号与藻类自发荧光的精准区分(图 1B),为 NPs 生态毒性机制研究提供了可靠技术框架。其中 STED 突破光学衍射极限,实现了低至 53 nm 粒径 NPs 的超分辨成像,FLIM 解决了荧光探针与藻类叶绿素 a 的光谱重叠难题。然而,在 STED 显微成像中,尤其是三维成像时,会导致严重的光漂白和光毒性。Srambickal 等^[25]的研究指出,在进行 3D 光学切片时,由于激发光和损耗光束的照射范围延伸至扫描焦平面之外,导致强烈的累积光漂白效应。这种累积效应不仅会显著降低图像的信噪比,还会导致成像目标在轴向定位上出现明显的位置偏移。值得注意的是,该团队同时证实,累积的光漂白可通过进一步限制轴向上的有效荧光发射体积(减小有效点扩散函数),在牺牲信号对比度和引入定位偏移的前提下,小幅提升系统在轴向维度上的空间分辨率。这一效应具有两面性,在 NPs 三维成像应用中必须谨慎评估并校准相关参数,避免将光漂白误判为有益效应。

1.3 单分子定位显微镜

单分子定位显微镜在成像过程中仅随机激活视场内的部分荧光分子,使其光斑无明显重叠以实现精确定位;随后将这些分子猝灭或漂白,再激活另一组分子并定位,经多次迭代后,基于累积的大量分子定位数据重构出超分辨图像^[23]。其代表性方法包括光激活定位显微镜(PALM)和随机光学重建显微镜(STORM)。van der Zwaag 等^[26]利用双色直接随机光学重建显微镜(dSTORM),结合单分子定量分析,在纳米尺度上实现了对纳米颗粒细胞摄取与胞内转运过程的可视化及定量研究。该技术分辨率约 20 nm,可完成 2D/3D 成像、单分子计数与结构共定位分析。研究以 HeLa 细胞和树突状细胞(DC2.4)为模型,研究了 80 nm 的聚苯乙烯、聚乳酸等多种 NPs 在上述细胞内的分布,并通过与共聚焦显微镜和

透射电镜成像结果对比,证实了dSTORM对细胞内NPs成像的可靠性。Andrian等^[27]开发了dSTORM与透射电镜(TEM)联用的光电关联显微成像技术,依托dSTORM约20 nm的平面分辨率,精准定位识别了100 nm的聚乳酸-羟基乙酸-聚乙二醇(PLGA-PEG)荧光纳米颗粒(图1C),并通过优化适配dSTORM的样品制备流程(高压冷冻-冷冻替代-树脂包埋),保留荧光信号并维持细胞超微结构,结合TEM完成NPs在细胞器内的精准成像。随后基于dSTORM的单颗粒追踪能力,解析了PLGA-PEG纳米颗粒的内吞-溶酶体转运路径,并量化验证了100 $\mu\text{mol/L}$ 氯喹对颗粒溶酶体逃逸的促进作用,克服了传统荧光显微镜无法高分辨追踪单颗粒NPs的难题。尽管SMLM技术在生物学领域取得了巨大成功,但直接应用于MNP s成像的文献相对较少,这可能因为用于NPs标记的常规染料无法满足其光开关循环要求,且现有标记方法均存在稳定性差、易改变颗粒原始属性或适用范围受限等问题。

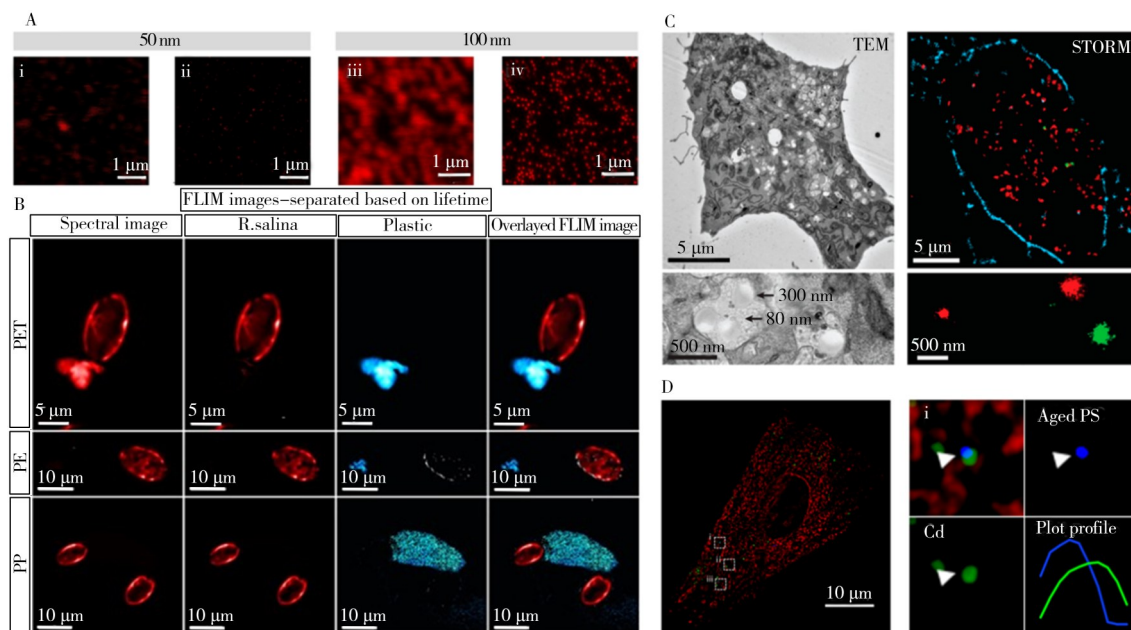


图1 NPs的共聚焦成像(i和iii)和STED成像(ii和iv)对比^[14](A),海洋微藻杜氏盐藻(*R. salina*)中NPs的STED成像图(第1列)与FLIM成像图(第2~4列)^[24](B),HeLa细胞内PLGA-PEG纳米颗粒的dSTORM超分辨荧光显微成像与透射电子显微镜(TEM)联用成像图^[27](C),SIM成像揭示aged PS-NPs与Cd(II)的共定位(aged PS-NPs、Cd(II)与细胞膜分别用蓝色、绿色和红色荧光进行标记)^[29](D)

Fig. 1 Comparison of laser-scanning confocal images(i, iii) and STED images(ii, iv) of NPs^[14](A); STED images(column 1) and FLIM images(columns 2-4) of NPs in marine microalgae *R. salina*^[24](B); correlative imaging of dSTORM super-resolution fluorescence microscopy and TEM for PLGA-PEG nanoparticles internalized by HeLa cells^[27](C); co-localization of aged PS-NPs and Cd(II) by SIM imaging(aged PS-NPs, Cd(II)), and the cell membrane were labeled with blue, green, and red fluorescence, respectively^[29](D)

1.4 结构光照明显微镜

结构光照明显微镜向样品投射周期性正弦明暗条纹照明光,使样品中超出光学衍射极限的精细结构与照明光发生信号调制,形成探测器可捕获的莫尔条纹;再通过专用重建算法解析该调制信号,提取样品的高频精细结构信息,从而突破衍射极限,使成像分辨率显著提升^[28]。Wang等^[29]借助结构光照明显微镜(SIM),通过多色荧光标记实现了水合粒径为118 nm的环境老化聚苯乙烯纳米塑料(aged PS-NPs)与Cd(II)在成骨细胞内的超分辨共定位(图1D),揭示了二者在细胞内的聚集行为及亚细胞分布,证实aged PS-NPs可限制Cd(II)摄取与线粒体摄入,进而阐明了老化纳米塑料降低Cd(II)生物利用率并缓解镉诱导成骨细胞毒性的作用机制。SIM通常能够将传统显微镜的横向分辨率提高约两倍,达到100 nm左右,且使用强度较低的激光进行照明,因此其光漂白和光毒性远低于SMLM和STED,这使得SIM非常适合进行长时间的活细胞成像^[30]。此外,SIM可以使用几乎所有常规的荧光染料和荧光蛋白,对探针要求不高,这为实验设计提供了更大的灵活性。但是图像重建过程需要复杂的计算,并且对原始图像的信噪比和结构光图案的精确性要求较高。样品中的散射和折射率不匹配也可能影响结构光图案的质量,从而降低重建图像的质量。

STED、SMLM、SIM 三类主流技术因成像原理与性能特性不同, 在环境介质及生物体内的实际应用效果存在明显差异。为厘清 3 类技术的核心成像特征与适用场景, 本文对 3 大主流超分辨荧光显微镜的关键成像特征进行系统对比, 具体如表 1 所示。

表 1 超分辨荧光显微镜成像特征对比

Table 1 Comparison of imaging characteristics of super-resolution fluorescence microscopy techniques

	STED	SMLM	SIM
理论分辨率(横向)	~30~70 nm	~10~30 nm	~100~120 nm
可稳定观测的最小 NPs 粒径	~50 nm	~80 nm	≥100 nm
光漂白与光毒性	需高功率脉冲损耗激光(功率比激发光高 2~3 个数量级), 光漂白与光毒性显著, 存在 NPs 光降解风险	需长时间、高频率强激光照明, 漂白与光毒性严重, 易破坏 NPs 结构	低功率宽场 LED/汞灯照明, 漂白与光毒性可忽略
活细胞成像兼容性	支持分钟级短时间活细胞成像, 高功率激光易造成细胞损伤与样品光降解	受单分子定位密度限制, 大视场下成像时间呈指数级增长, 不适合活细胞成像	支持数小时级长时间活细胞动态成像, 对细胞活性影响极小
荧光标记要求	需光稳定性强、耐高功率激光的专用 STED 荧光染料或量子点, 普通荧光探针易快速漂白	必须使用光开关/光转换/光激活型特殊荧光探针, 普通荧光探针无法使用, 标记效率与特异性直接决定图像信噪比与最终成像质量	普通有机荧光染料、荧光蛋白、量子点等均可使用, 无需特殊荧光探针, 样品制备简便快速
数据处理难度	直接成像, 无需后期重构, 仅需基础的图像对比度调整	需专业的单分子定位重构软件, 参数优化复杂, 数据处理耗时远长于成像时间	商用机型自带实时重构算法, 操作简单, 无需复杂后处理

尽管上述 3 类超分辨荧光显微技术已实现 NPs 成像领域的重要突破, 但仍面临着共同的核心瓶颈: 持续的激发光照射不可避免地导致荧光探针光漂白, 限制了长时程动态成像。此外, 复杂环境基质(如土壤腐殖质、生物组织)的自发背景荧光会严重掩盖 NPs 的荧光信号, 降低成像信噪比。针对这些问题, Yang 等^[31]开发了基于近红外 II 区聚集诱导发射荧光探针(NIR-II AIEgens)的 MNPs 示踪技术。通过乳液聚合法将 NIR-II AIEgens 包埋于聚苯乙烯基质形成核壳结构, 从根本上避免染料泄漏, 制备了 2 μm MPs 和 100 nm NPs 的稳定示踪颗粒。依托 NIR-II 窗口生物自发荧光弱、光子散射少的固有特性, 从源头解决了复杂基质背景荧光干扰问题, 成像信噪比达 39(MPs)和 28(NPs)以上。该标记颗粒光稳定性优异, 高功率激光或日光长期照射无明显荧光衰减, 有效克服了传统荧光探针的光漂白缺陷; 且荧光强度与颗粒浓度线性相关性良好, 可实现生物体内的准确定量。本课题组利用长余辉纳米颗粒(PLNPs)免原位激发的特性, 开发了新型 NPs 成像分析方法^[32-33], 从根本上消除了基质自发荧光的干扰, 同时大幅降低了光漂白与光毒性, 显著提升了成像信噪比。在此基础上, 我们进一步将 PLNPs 与适配体功能化修饰、磁性纳米颗粒快速分离技术相结合, 构建了兼具靶向识别、高效富集与高信噪比成像能力的通用检测平台, 仅需更换靶向适配体即可实现对不同类型 NPs 及环境有害物的高特异性检测, 为 NPs 在复杂环境与生物体系中的长时程动态示踪提供了全新的技术路径。

2 无标记超分辨成像技术

无标记超分辨成像技术凭借无需外源荧光标记, 可同步获取样品本征形貌与化学信息的核心优势, 成为环境与生物体系中 MNPs, 尤其是 NPs 原位、无损分析的核心技术。无标记超分辨成像可分为两大类: 一是基于拉曼散射的超分辨成像技术, 二是基于红外光谱的超分辨成像技术。

2.1 基于拉曼散射的超分辨成像技术

拉曼光谱法是一类基于光非弹性散射效应的振动光谱技术, 可获取待测样品详尽的分子结构信息。当入射光与分子发生相互作用时, 绝大多数光子发生弹性散射, 仅极小部分光子发生非弹性散射, 其能量发生改变, 且能量变化与分子振动模式直接对应。该非弹性散射过程可产生具备“分子指纹”特性的拉曼光谱图, 借此可实现对分子信息结构的高特异性识别^[34]。

共聚焦拉曼成像技术虽可实现 MPs 的直接化学识别, 但其成像能力受光学衍射极限的制约, 难以对 NPs 进行有效分辨与精准成像, 超分辨拉曼散射成像技术便是针对这一瓶颈问题发展而来的解决方案。基于拉曼散射的超分辨成像技术可分为两大类, 一类是针尖增强拉曼散射(TERS), 属于近场本征型超分辨拉曼技术, 可将可见光聚焦成纳米级光斑, 在针尖产生强近场电磁场, 大幅提升拉曼散射效

率^[35]。第二类技术是将受激拉曼散射(SRS)、表面增强拉曼散射(SERS)、相干反斯托克斯拉曼散射(CARS)等拉曼技术与主流超分辨成像技术相融合,在远场条件下实现拉曼信号的超分辨成像,这类技术统称为远场衍生型拉曼技术。Dutta等^[36]基于原子力显微镜-针尖增强拉曼光谱(AFM-TERS)联用技术,通过银(Ag)包覆的AFM针尖产生局域表面等离子体共振,在样品表面形成局域增强的电磁场,突破了光学衍射极限,大幅提升了拉曼信号的灵敏度与空间分辨率,实现了单个聚苯乙烯纳米塑料(~30 nm和~70 nm)的AFM形貌图和对应的TERS光谱检测(图2A)。Qian等^[37]构建的窄带高光谱SRS显微系统能够将激发光能量聚焦于拉曼散射截面最大的特征振动模式,通过收集拉曼效应实现了超过 10^8 倍的散射信号增强,理论上可在数十秒/像素的采集速度下实现信噪比 >10 的单颗粒稳定检测,从而克服了自发拉曼因信号微弱而难以探测纳米颗粒的局限,最终实现对100 nm左右纳米颗粒的单颗粒快速检测与化学识别。该研究结合数据驱动算法完成了7种常见商用塑料的精准识别,对塑料颗粒的识别准确率超96%,整体假阳性率低于1%,解决了低信噪比NPs光谱的自动识别问题,为高通量环境样品分析奠定了基础。Xin等^[38]采用高光谱受激拉曼散射(SRS)显微技术,依托非线性光学效应与高数值孔径物镜突破光学衍射极限,实现了百纳米级超分辨空间成像,直接可视化100 nm聚苯乙烯单颗粒,精准识别了斑马鱼体内的50 nm NPs聚集体(图2B)。该技术还具备三维光学层析超分辨能力,通过 z 轴层扫完成器官深度分布成像,清晰解析NPs在斑马鱼各器官的三维空间分布,为活体内NPs的精准空间定位提供了无标记超分辨成像新方法。Lee等^[39]结合局域表面等离激元结构光照明显微镜与blindSIM算法,以粗糙银膜为核心基底,实现了NPs超分辨拉曼成像(图2C)。该方法通过粗糙银膜激发等离激元产生超高频波近场散斑,突破了传统线性SIM的成像极限,同时利用SERS效应放大NPs微弱拉曼信号,保障超分辨重建信噪比。最终经算法重建,成像分辨率达72 nm,较衍射极限提升4.4倍,实现了80 nm PS-NPs的无标记成像。Fang等^[40]利用激光光斑内激发能量密度与NPs拉曼发射信号均呈二维高斯分布的固有特性,通过采集原始拉曼成像数据、反卷积拟合二维高斯曲面、重构超分辨图像的核心流程,同步实现了NPs微弱信号提取、背景噪声抑制与拉曼信号增强,验证了其对于100 nm NPs的超分辨成像能力。Fang等^[41]后续对基于高斯拟合反卷积的共聚焦拉曼超分辨成像方法进行实用性升级,并将其应用于环境、食品、生物等真实复杂样品中NPs的检测和分析。Qian等^[42]开发了物理-光学协同放大的衍生型超分辨技术VISTA,样本经4.2倍各向同性膨胀后显著降低了NPs周围的信号干扰,在 $3\,050\text{ cm}^{-1}$ 波数下对100 nm PS-NPs的C—H键进行SRS成像,分辨率最高可达78 nm。

2.2 基于红外光谱的超分辨成像技术

傅里叶变换红外(FTIR)光谱法是一种广泛应用于表征材料化学组成的技术,尤其适用于分析样品的化学键与分子结构。该方法基于分子化学键的特征红外吸收原理,当红外光子能量与分子振动能级差匹配时会被特异性吸收。

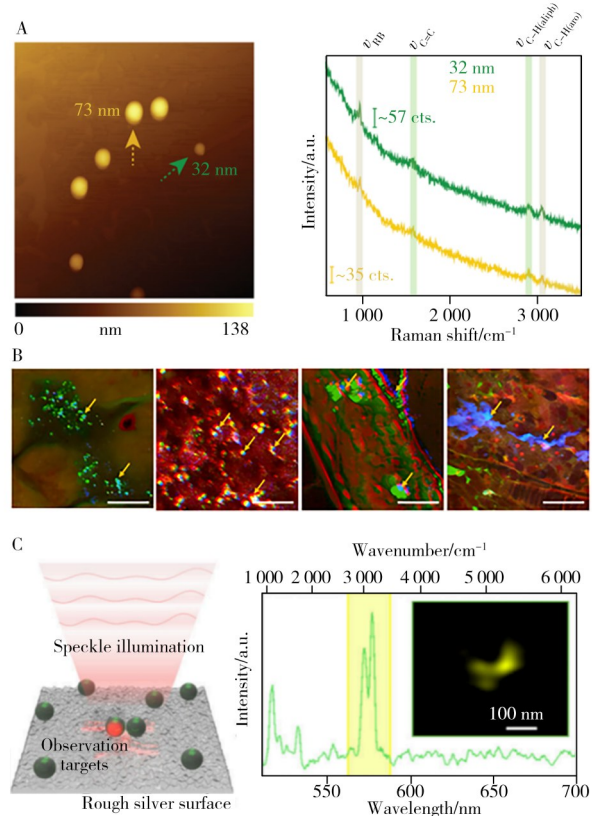


图2 32 nm与73 nm聚苯乙烯(PS)颗粒的原子力显微镜(AFM)形貌图与TERS光谱^[36](A), 50 nm PS微球暴露下受精后第6天斑马鱼幼鱼关键器官的SRS成像图(红:蛋白质;绿:脂质;蓝:PS微球,比例尺=20 μm)^[38](B), 基于近场散斑的无标记超分辨成像工作原理与80 nm PS的超分辨成像图^[39](C)

Fig. 2 AFM topography images of 32 nm and 73 nm PS particles and TERS spectra^[36](A); SRS images of key organs in zebrafish larvae at 6 days post fertilization exposed to 50 nm PS microspheres (red: protein; green: lipid; blue: PS microspheres, scale bar=20 μm)^[38](B); schematic of the working principle of label-free super-resolution imaging via near-field speckle, and a super-resolution image of 80 nm PS beads^[39](C)

仪器通过迈克尔逊干涉仪获取干涉图,经傅里叶变换转换为特征红外光谱,以此表征样品的分子结构与化学组成^[34]。

随着近年来的发展,红外光谱法已发展为一个更宽泛的技术体系,不仅包括经典的傅里叶变换红外光谱(FTIR),还涵盖了光热红外光谱法(O-PTIR)、基于原子力显微镜的红外光谱法(AFM-IR)、纳米傅里叶变换红外光谱技术(Nano-FTIR)、散射型扫描近场光学技术(s-SNOM)等新兴技术。FTIR和O-PTIR基于远场红外吸收原理,只能对较大粒径的MPs进行快速识别和成像;而AFM-IR和Nano-FTIR通过将红外信号与近场探针检测或光热效应相结合,突破远场红外光谱的衍射极限,可对纳米级塑料进行单颗粒识别与微观表征^[43-45]。O-PTIR通过探测红外激光照射样品产生的光热折射率变化实现成像,空间分辨率可达500 nm;AFM-IR利用AFM针尖检测样品吸收红外光产生的热膨胀信号,将红外化学识别与纳米级形貌表征相结合,空间分辨率可达100 nm;Nano-FTIR利用金属化针尖将红外光局域在纳米尺度,通过探测散射近场信号获取光谱,空间分辨率可达20 nm。与拉曼超分辨成像相比,红外超分辨成像不受样品自发荧光干扰,对极性基团聚合物检测灵敏度更高,但拉曼技术对非极性C—C、C—H键的响应更强,成像速度更快且可实现活细胞动态成像,二者具有很强的互补性。Xie等^[46]采用空间分辨率100 nm的AFM-IR技术,以厦门五缘湾海水为研究对象,首次实现了环境水体中单个MNP的直接识别,分辨率优于1 μm,成功鉴定出0.7 μm的聚3-羟基丁酸酯(P3HB)、0.86 μm的双酚A型环氧树脂等多种MNP,并解析了其结晶度等结构特征。需要明确的是,受红外激光热扩散效应(多数聚合物热扩散长度约100 nm)及检测信号与颗粒体积正相关的原理限制,该技术无法有效分辨粒径小于50 nm的单颗粒NPs。同时其样品预处理通过20 μm尼龙膜与0.1 μm玻璃纤维膜分级过滤,仅富集了0.1~20 μm区间的颗粒,未覆盖小于0.1 μm的纳塑料。尽管存在上述局限,该技术仍可同步获取NPs的三维形貌、化学组成与表面吸附信息,并能有效区分环境中共存的硅藻、细菌及无机盐等基质干扰,为100 nm~20 μm MNP的单颗粒精准分析提供了强大工具。Belontz等^[47]构建了原子力显微镜红外光谱(AFM-IR)与光热红外光谱(O-PTIR)联用的超分辨红外光谱分析体系,无需样品前处理即可完成滑雪场积雪样本中MNP的定性识别、化学表征与定量分析。研究在样本中仅检出可生物降解脂肪族共聚酯P(3HB-co-4HB),其中96%的颗粒粒径不足1 μm,最小颗粒粒径仅14 nm。经AFM-IR定量,该聚合物在积雪融水中的质量浓度为0.15 μg/mL,证实可生物降解塑料在寒冷雪地环境中仍无法完全降解,会持续破碎并以NPs形式长期赋存。Huth等^[48]利用Nano-FTIR实现了20 nm空间分辨率的红外指纹光谱检测。在此基础上,Wagner等^[44]针对传统Nano-FTIR光源无法捕捉聚合物弱光学信号的痛点,研发了激光驱动等离子体光源(LDPS),其红外带宽超1 000 cm⁻¹、亮度为传统Globar光源的40倍,信噪比提升近1个数量级,耦合s-SNOM系统可实现25 nm的空间分辨率。Meyns等^[49]则建立了Nano-FTIR标准化谱库匹配识别体系,验证了1 700~1 300 cm⁻¹指纹区可实现高效聚合物区分,单谱检测时间压缩至7 min内,解决了PE、PS等弱信号聚合物的识别瓶颈,同时联用IR-s-SNOM成像实现了20 nm分辨率的微区成像,无需复杂前处理即可完成环境老化纳米塑料的准确鉴定,形成了从初筛到精准鉴定的全流程高通量筛查方案。

3 总结与展望

本文系统梳理了超分辨光学成像技术在NPs研究领域的应用进展,并按成像策略分为超分辨荧光显微成像与无标记超分辨成像两大类。前者重点阐述了STED、SMLM、SIM三大主流技术的成像原理,系统对比了三分者的分辨率、光毒性、标记要求、活细胞兼容性等核心性能,明确了各技术在NPs单颗粒定位、动态追踪中的适用场景与局限。后者聚焦基于拉曼散射与红外光谱的超分辨技术,介绍了其无需外源标记、可同步获取形貌与化学指纹信息的核心优势,及其在复杂环境与生物样品中超分辨检测NPs的应用。

尽管上述技术已在NPs超分辨光学成像领域取得重要突破,但两类技术路线均存在局限性,制约了其在复杂体系中的应用。对于超分辨荧光显微成像技术,NPs需要预先标记荧光探针,而现有标记方法(被动吸附、溶胀掺入、共价偶联)均存在固有缺陷:被动吸附和溶胀掺入的标记稳定性差,易在复杂环境基质中发生荧光探针脱落,导致假阴性结果;共价偶联虽稳定性高,但会显著改变纳塑料的

表面电荷、疏水性等理化性质,进而影响其环境行为和生物效应。更关键的是,超分辨荧光显微成像仅能实现对已知、可标记NPs的检测,无法对环境未知类型、未知来源的NPs进行非靶向识别,这从根本上限制了其在真实环境样品筛查中的应用。此外,光漂白与光毒性可能影响超分辨荧光成像的性能,造成假阴性结果。基于上述问题,后续研究应进一步开发高稳定性、低生物毒性的新型荧光探针,优化溶胀掺入、共价偶联等标记策略以减少对NPs理化性质的影响,同时通过深度学习算法优化STED的激光时空调控模式、SIM的图像重建算法与SMLM的无监督单分子定位算法,在保证分辨率的同时将激光功率降低1~2个数量级,显著缓解光漂白与光毒性,提升复杂基质下的成像性能。制约无标记超分辨成像技术分析性能的关键是“分辨率-成像通量-检测灵敏度”三者之间的互斥关系。高分辨成像技术(如TERS、Nano-FTIR)虽能分辨20~30 nm的单颗粒,但成像速度极慢(单像素采集需数秒至数分钟),单张视场成像需数小时,难以满足环境样品高通量筛查的需求;高通量成像技术(如SRS)虽能实现每秒数千像素的成像,但分辨率仅为100 nm左右,难以分辨50 nm以下的单颗粒NPs;而AFM-IR则存在检测灵敏度低的问题,对聚乙烯(PE)、聚丙烯(PP)等弱红外吸收聚合物的检测限较高,难以识别痕量NPs。因此,单一无标记超分辨成像技术无法同时满足环境监测对高分辨率、高通量和高灵敏度的三重要求。未来需开发高亮度、宽光谱的量子级联激光阵列光源与核-壳复合结构的等离激元针尖/基底,将信号增强倍数提升至 10^{10} 以上,并完善基于大语言模型的多模态光谱数据库与智能识别系统,实现低信噪比光谱的快速匹配与超分辨图像的自动重建,将单颗粒识别时间从数分钟缩短至数秒,有效破解分辨率与检测通量的矛盾。

多模态成像技术的融合虽被公认为是未来发展方向,但目前仍存在显著的技术壁垒。硬件层面不同成像技术的光学路径、扫描速度与样品台设计难以兼容,导致联用系统结构复杂、成本高昂;软件层面缺乏统一的数据格式与空间配准算法,三维成像时轴向配准误差可达数百纳米;样品层面荧光标记与无标记检测的制备要求存在冲突,如荧光标记会干扰拉曼与红外光谱的准确性。因此,后续研究需重点突破不同成像技术的硬件兼容难题,开发集成荧光、拉曼与红外超分辨成像的共用光学系统与同步扫描样品台,建立统一的多模态数据格式与亚微米级空间配准算法,同时优化样品制备流程,开发同时兼容荧光标记与无标记检测的通用样品制备方法,实现NPs的形貌观测、化学组成分析与动态过程追踪的一体化表征。

目前超分辨成像技术高度依赖大型精密仪器与专业操作人员,缺乏统一的标准规范,导致不同实验室之间的样品前处理方法、成像参数设置与数据判读标准差异较大,研究结果难以相互验证与比较。同时,现有研究多采用商品化的标准聚苯乙烯NPs作为模型,与实际环境中经历紫外线辐射、物理磨损与生物降解的老化NPs存在显著差异。此外,NPs吸附的重金属、持久性有机污染物等还会产生严重的光谱干扰,进一步降低检测的准确性。未来需针对水体、土壤、大气与生物组织等不同样品基质,制定从样品采集、前处理、成像参数设置到数据判读与定量分析的全流程标准操作程序;建立包含不同聚合物类型、不同老化程度、不同复合污染状态NPs的标准光谱库与参比物质库,为实验室模拟研究与真实环境检测提供统一基准;加强行业内的数据共享与技术交流,推动超分辨光学成像技术纳入国家环境安全监测的标准方法体系,从根本上提升技术的可靠性与普适性。

参考文献:

- [1] Thompson R C, Courtene-Jones W, Boucher J, Pahl S, Raubenheimer K, Koelmans A A. *Science*, **2024**, 386 (6720): ead12746.
- [2] Wu X W, Zhao X L, Chen R Z, Liu P, Liang W G, Wang J Y, Teng M M, Wang X, Gao S X. *Water Res.*, **2022**, 221: 118825.
- [3] Monira S, Roychand R, Hai F I, Bhuiyan M, Dhar B R, Pramanik B K. *Chemosphere*, **2023**, 334: 139011.
- [4] Zhao J, Lan R Y, Wang Z Y, Su W L, Song D P, Xue R Z, Liu Z M, Liu X, Dai Y H, Yue T T, Xing B S. *Nat. Nanotechnol.*, **2024**, 19(3): 406-414.
- [5] Wu J R, Zhu Z J, Liu W J, Zhang Y L, Kang Y Y, Liu J, Hu C, Wang R L, Zhang M J, Chen L L, Shao L Q. *ACS Nano*, **2022**, 16(10): 15627-15652.
- [6] Shi C L, Liu Z Q, Yu B Z, Zhang Y N, Yang H M, Han Y, Wang B H, Liu Z Q, Zhang H J. *Sci. Total Environ.*, **2024**, 906: 167404.

- [7] Li P, Lai Y J, Zheng R G, Li Q C, Sheng X Y, Yu S J, Hao Z N, Cai Y Q, Liu J F. *Environ. Sci. Technol.*, **2023**, 57(32): 12010–12018.
- [8] Nihart A J, Garcia M A, El Hayek E, Liu R, Olewine M, Kingston J D, Castillo E F, Gullapalli R R, Howard T, Bleske B, Scott J, Gonzalez–Estrella J, Gross J M, Spilde M, Adolph N L, Gallego D F, Jarrell H S, Dvorscak G, Zuluaga–Ruiz M E, West A B, Campen M J. *Nat. Med.*, **2025**, 31(4): 1114–1119.
- [9] Sun H, Song Y. *Environ. Health.*, **2025**, 3(11): 1264–1265.
- [10] Araújo A M, Mota C, Ramos H, Faria M A, Carvalho M, Ferreira I. *Arch. Toxicol.*, **2025**, 99(9): 3505–3525.
- [11] Xiang S, Chen M Y, Liu J, Wang J. *Foods*, **2025**, 14(19): 3349.
- [12] Yuan L, Yan Z Y, Hao F, Wang Z Y, Yuan X Z, Yang X F, Chen T, Yan X P. *Chin. J. Anal. Chem.* (袁珑, 严诸颖, 郝放, 王震宇, 袁宪正, 杨晓帆, 陈涛, 严秀平. 分析化学), **2025**, 44(9): 1788–1800.
- [13] Fang C, Luo Y L, Naidu R. *Anal. Chim. Acta*, **2024**, 1290: 342069.
- [14] Nguyen B, Tufenkji N. *Environ. Sci. Technol.*, **2022**, 56(10): 6426–6435.
- [15] Fang C, Luo Y, Naidu R. *TrAC Trends Anal. Chem.*, **2023**, 166: 117158.
- [16] Wu T, Hu G Z, Ning J, Yang J L, Zhou Y M. *J. Hazard. Mater.*, **2024**, 461: 132695.
- [17] Hell S W, Wichmann J. *Opt. Lett.*, **1994**, 19(11): 780–782.
- [18] Betzig E, Patterson G H, Sougrat R, Lindwasser O W, Olenych S, Bonifacino J S, Davidson M W, Lippincott–Schwartz J, Hess H F. *Science*, **2006**, 313(5793): 1642–1645.
- [19] Rust M J, Bates M, Zhuang X. *Nat. Methods*, **2006**, 3(10): 793–796.
- [20] Gustafsson M G L. *J. Microsc.*, **2000**, 198(2): 82–87.
- [21] Huang B, Babcock H, Zhuang X W. *Cell*, **2010**, 143(7): 1047–1058.
- [22] Vesely P. *Scanning*, **2007**, 29(3): 91.
- [23] Sigal Y M, Zhou R B, Zhuang X W. *Science*, **2018**, 361(6405): 880–887.
- [24] Sioen M, De Keersmaecker H, Vercauteren M, Janssen C, Asselman J. *Environ. Toxicol. Chem.*, **2025**, 44(3): 624–632.
- [25] Srambickal C V, Bergstrand J, Widengren J. *Methods Appl. Fluoresc.*, **2021**, 9(1): 5003.
- [26] van der Zwaag D, Vanparijs N, Wijnands S, De Rycke R, De Geest B G, Albertazzi L. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2016**, 8(10): 6391–6399.
- [27] Andrian T, Muela Y, Delgado L, Albertazzi L, Pujals S. *Nanoscale*, **2023**, 15(35): 14615–14627.
- [28] Chen Q, Gou W, Lu W Q, Li J, Wei Y H, Li H Y, Wang C Y, You W, Li Z Q, Dong D S, Bi X L, Xiao B, Chen L Y, Shi K B, Fan J C, Huang X S. *Nat. Photonics*, **2025**, 19(6): 567–576.
- [29] Wang X Y, Guo S Q, Li X X, Zhao X C, Hu S Y, Liu R T. *Environ. Sci. Technol.*, **2026**, 60(4): 2988–3001.
- [30] Long Y, Zheng X M, Wang Y Y, Du P, Li X R, Chen J J, Shao Y H. *Opt. Lasers Eng.*, **2025**, 194: 109203.
- [31] Yang L P, Tang B Z, Wang W X. *ACS Nano*, **2023**, 17(19): 19410–19420.
- [32] Hao F, Yan Z Y, Wang Z, Yan X P. *Anal. Chem.*, **2024**, 96(26): 10662–10668.
- [33] Yan Z Y, Yuan L, Hao F, Yan X P. *Anal. Chem.*, **2025**, 97(40): 22145–22152.
- [34] Nene A, Sadeghzade S, Viaroli S, Yang W, Uchenna U P, Kandwal A, Liu X, Somani P, Galluzzi M. *Environ. Sci. Eur.*, **2025**, 37(1): 7.
- [35] Domke K F, Pettinger B. *ChemPhysChem*, **2010**, 11(7): 1365–1373.
- [36] Dutta A, Bienz S, Kumar N, Zenobi R. *Nano Lett.*, **2025**, 25(51): 17806–17813.
- [37] Qian N X, Gao X, Lang X Q, Deng H P, Bratu T M, Chen Q X, Stapleton P, Yan B Z, Min W. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2024**, 121(3): e2300582121.
- [38] Xin L, Huang M Z, Huang Z W. *Environ. Int.*, **2024**, 187: 108679.
- [39] Lee H K, Lei M, Zhao J X, Chen G H, Hu J, Burns Z, Tian F L, Liu Z W. *Nano Lett.*, **2025**, 25(22): 8954–8960.
- [40] Fang C, Luo Y L, Naidu R. *Talanta*, **2023**, 265: 124886.
- [41] Fang C, Luo Y L, Naidu R. *Anal. Methods*, **2023**, 15(40): 5300–5310.
- [42] Qian C X, Miao K, Lin L E, Chen X H, Du J J, Wei L. *Nat. Commun.*, **2021**, 12(1): 3648.
- [43] Xie J H, Gowen A, Xu W, Xu J L. *Anal. Methods*, **2024**, 16(15): 2177–2197.
- [44] Wagner M, Jakob D S, Horne S, Mittel H, Osechinskiy S, Phillips C, Walker G C, Su C M, Xu X J G. *ACS Photonics*, **2018**, 5(4): 1467–1475.
- [45] Mester L, Govyadinov A A, Chen S, Goikoetxea M, Hillenbrand R. *Nat. Commun.*, **2020**, 11(1): 3359.
- [46] Xie D D, Fang H Y, Zhao X, Lin Y, Su Z H. *Anal. Chim. Acta*, **2025**, 1354: 343992.
- [47] Belontz S L, Brahney J, Caplan C E, Dillon E, Yan T, Dominguez G. *Environ. Sci. Technol.*, **2025**, 59(26): 13362–13373.
- [48] Huth F, Govyadinov A, Amarie S, Nuansing W, Keilmann F, Hillenbrand R. *Nano Lett.*, **2012**, 12(8): 3973–3978.
- [49] Meyns M, Primpke S, Gerdtts G. *Anal. Methods*, **2019**, 11(40): 5195–5202.