

中国土壤学会团体标准

T/SSSC 00X—2024

土壤环境微塑料监测技术规范/标准—激光
显微拉曼光谱/傅里叶变换红外光谱-光学
显微镜法

Technical specifications/standards for monitoring microplastics in the soil environment
- laser micro-Raman spectroscopy/Fourier transform infrared spectroscopy - optical
microscopy method

2024 - XX - XX发布

2024 - XX - XX实施

前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件起草单位：西北农林科技大学、陕西师范大学、中国科学院南京土壤研究所。

本文件主要起草人：贾汉忠、王艳华、刘鹏、徐信琪、封紫贤、祝可成、李彦霈、叶茂、王瑞媛、郭子弋、钱依琳

本文件在执行过程中的意见或建议反馈至中国土壤学会标委会。

本文件为首次发布。

本文件共三个部分：

——第 1 部分：总则；

——第 2 部分：显微拉曼成像光谱法；

——第 3 部分：傅里叶变换红外光谱-光学显微镜法。

第 1 部分是土壤微塑料测定的基础标准，主要技术内容有方法原理、试剂及配制、仪器设备、样品采集与保存、样品的前处理、质量控制以及注意事项。

第 2-3 部分是两种不同仪器的特性部分，分别规定了特定的技术内容，与第 1 部分共同使用，每部分仪器的技术内容包括方法原理、仪器设备、仪器工作参考条件、样品分析测定、结果计算、测定范围、精密度和回收率以及相应的附录格式。

本文件为全文推荐。

土壤环境中微塑料监测技术规范/标准

第一部分：总则

1 范围

本标准规定了测定土壤中微塑料的方法

本标准适用于土壤中微塑料的测定，测定的粒径范围为 0.001-5 mm。

2 规范性引用文件

下列文件对本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

DB21/T 2751 海水中微塑料的测定 傅里叶变换显微红外光谱法

T/CAQI 367.1-2024 地表水中微塑料的测定 第 1 部分：傅里叶变换显微红外光谱法

T/CAQI 367.2-2024 地表水中微塑料的测定 第 1 部分：傅里叶变换红外光谱法

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 微塑料 Microplastics

直径小于 5 mm 的塑料颗粒或碎片。主要包括聚丙烯（Polypropylene, PP）、聚乙烯（Polyethylene, PE）、聚氯乙烯（Polyvinyl Chloride, PVC）、聚苯乙烯（Polystyrene, PS）、聚酰胺（Polyamides, PA）、丙烯腈-丁二烯-苯乙烯（Acrylonitrile-butadiene-styrene, ABS）、聚对苯二甲酸乙二酯醇（Polyethylene Terephthalate, PET）、聚甲基丙烯酸甲酯（Polymethyl Methacrylate, PMMA）、聚氨酯（Polyurethane, PU）、聚四氟乙烯（Polytetrafluoroethylene, PTFE）等常见聚合物。

3.2 微塑料丰度 Microplastic abundance

单位土壤质量中含有微塑料的数量。本标准中以每千克土壤中微塑料的个数表征。

3.3 微塑料的形貌 Morphology of microplastics

微塑料的形貌主要包括微塑料的颜色和形状。颜色主要可分为红色、黄色、白色、绿色、蓝色、紫色、粉色、灰色、黑色、透明以及其它；形状可分为球形、薄膜、碎片、纤维状。

4 方法原理

本标准使用激光显微拉曼光谱仪、色散拉曼显微镜、傅里叶变换红外光谱仪和光学显微镜对土壤中的微塑料进行测定。样品去除生物干扰后，目标物被抽滤至微孔滤膜上。首先使用色散拉曼显微镜来检测提取的滤膜上的潜在目标物，并记录它们的形态特征。随后使用激

光显微拉曼光谱仪、傅里叶变换红外光谱仪对疑似目标物进行谱图采集与分析，将采集到的目标物的光谱图与相应仪器的标准谱图对比，对疑似目标物进行定性分析。最后，采用五点法和 Imadge J 软件对微塑料的数量进行统计计算，确定土壤中微塑料的丰度。本标准适用于检测 3.1 中所述微塑料类型。

5 试剂

本标准所用试剂。除非特别标注，均使用分析纯试剂，水为去离子水或等效纯水。

5.1 氯化钠（NaCl）（优级纯）。

5.2 浓硝酸（HNO₃）：质量分数约为 65%-68%。

5.3 过氧化氢（H₂O₂）：浓度为 30%的过氧化氢。

5.4 饱和氯化钠溶液：称取 58.50 g 氯化钠于 300 mL 蒸馏水中，用玻璃棒搅拌使其完全溶解。将烧杯中溶液用玻璃棒引流转移到 1000 mL 容量瓶中，加水定容至刻度线。

6 仪器和设备

6.1 不锈钢铲。

6.2 不锈钢筛网，孔径为 5 mm。

6.3 烘箱。

6.4 牛皮纸袋。

6.5 真空抽滤装置：包括真空泵、抽滤瓶和抽滤器。

6.6 滤膜：孔径为 0.45 μm 的玻璃纤维滤膜。

6.7 无齿不锈钢镊子。

6.8 玻璃培养皿。

6.9 烧杯和玻璃棒：烧杯体积分别为 250 mL 和 500 mL。

6.10 塑料洗瓶：500 mL。

6.11 超声设备，频率 40-60 KHz。

6.12 铝箔纸。

6.13 磁力搅拌器。

6.14 天平。

7 样品采集与保存

7.1 采样

由于土壤质地大多坚硬，通常采用不锈钢铲（6.1）进行采集。在采集土壤样品时，用不锈钢铲轻轻铲除土壤表面较大的植物、生物碎屑以及垃圾，进行初筛分，并用牛皮纸袋（6.4）

封装，在牛皮纸袋（6.4）上标好采样时间及采样地点等信息，每个采样点收集土壤重量在 1 kg 左右，以供后续实验所用。

7.2 保存

样品采集后密封带回实验室，及时进行分析测定。若不能及时分析样品，应置于阴凉干燥处保存。

8 样品的前处理

8.1 样品的筛分

将野外采集的土壤样品均匀铺在铝箔纸（6.12）上，挑去肉眼可见的树枝、石块等大颗粒；使用 5 mm 孔径的筛网（6.2）进行筛分，并将过筛的土样收集，未过筛的土壤颗粒进行研磨，再次过筛，此步骤重复三到五次，将全部过筛的土样均匀铺在铝箔纸（6.12）上，在不高于 60 °C 条件下烘干 24 h，取 30 g 处理后的样品放入烧杯中。

8.2 样品的浮选

8.2.1 配制 200 mL 的饱和氯化钠溶液（5.4）作为浮选液，倒入烧杯中；

8.2.2 使用磁力搅拌器（6.13）搅拌 30 min，超声 10 min，曝气 5 min，静置 24 h；

8.2.3 以玻璃棒（6.9）引流，将浮选液缓慢沿大烧杯（6.9）内壁倒入，避免液滴飞溅和对原液造成扰动；

8.2.4 在倒入浮选液的过程中，密度较低的物质随着上层的浮选液流出，并转移至漏斗内 0.45 μm 孔径的滤膜（6.6）上。（静置 12 h，并重复操作 3、4、5 四次）

8.2.5 打开真空抽滤泵（6.5），对上层溶液进行抽滤，并用超纯水清洗漏斗壁，继续抽滤，洗去盐基。

8.3 样品的消解

8.3.1 将滤膜（6.6）上浮选出的固体物质冲洗下来，并在 50 °C、振荡频率 150 r/min 的条件下，使用 30%过氧化氢（5.3）消解 3 天；

8.3.2 消解完成后再次进行 8.2.5，用无齿不锈钢镊子（6.7）将水系滤膜（6.6）取下置于培养皿（6.8）中，待测。

9 质量控制

9.1 每批样品应做全程序空白，每批次空白样品不少于 3 个。如果测定结果表明全程序有不可忽略的玷污，应查明污染源来源并进行消除。

9.2 应特别注意实验室污染对实验结果的影响，实验前使用酒精擦拭实验台，操作实验过程中应全程穿着棉质实验服。若中途停止实验，需将容器用铝箔封口。

附录 A

土壤中微塑料丰度计算记录表

采样日期: ____年____月____日 分析日期: ____年____月____日

样品编号	目标物					
	颜色	微塑料类型	尺寸	形状	匹配度	备注
微塑料个数合计（个）						
微塑料丰度 A（个/kg）						

土壤环境中微塑料监测技术规范/标准

第 2 部分：激光显微拉曼成像光谱法

1 范围

本标准规定了测定土壤中微塑料的方法。

本标准适用于土壤中微塑料的测定，测定的粒径范围为 0.001-5 mm。

2.规范性引用文件

下列文件对本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

DB21/T 2751 海水中微塑料的测定 傅里叶变换显微红外光谱法

T/CAQI 367.1-2024 地表水中微塑料的测定 第 1 部分：傅里叶变换显微红外光谱法

T/CAQI 367.2-2024 地表水中微塑料的测定 第 1 部分：傅里叶变换红外光谱法

3 方法原理

本标准使用激光显微拉曼光谱仪对土壤中的微塑料进行测定。样品去除生物干扰后，目标物被抽滤至微孔滤膜上。激光显微拉曼光谱仪使用的是雷尼绍和 Bruker Senterra 色散拉曼显微镜，用 WIRE 4.1 软件进行测样，配备 785 nm 和 532 nm 激光器，分别对应 1200 槽/mm 和 1800 槽/mm 的光栅。通过显微拉曼光谱在 50 倍视野下分析微塑料颗粒。其中系统校准是通过光栅的零级校正和硅片峰值校正来完成。首先使用色散拉曼显微镜来检测提取的滤膜上的潜在目标物，并记录它们的形态特征。随后使用激光显微拉曼光谱仪对疑似目标物进行谱图采集与分析，将采集到的目标物的光谱图与相应仪器的标准谱图对比，对疑似目标物进行定性分析。最后，使用五点法对微塑料的数量进行统计计算，确定土壤中微塑料的丰度。

4 仪器设备

4.1 色散拉曼显微镜。

4.2 无齿不锈钢镊子。

4.3 载玻片。

4.4 激光显微拉曼光谱仪：波数范围 3400-50 cm^{-1} ，分辨率小于 5 cm^{-1} ，配有制冷 CCD/SCMOS/EMCCD 检测器和标准谱图库。

5 仪器工作参考条件

激光显微拉曼光谱仪分辨率为 2-4 cm^{-1} ，曝光时间与累积次数随目标物的信号大小变化。激发波长与激光能量随目标物的信号大小变化。激发波长宜为 532 nm，荧光干扰较大的样

品推荐使用 785 nm。

6 分析测定

6.1 将第一部分提取的含有微塑料颗粒的滤膜从培养皿中取出后平整地放在载玻片（4.3）上，根据目标物尺寸选择合适的物镜倍数，使目标物视野达到最清晰的效果。

6.2 将整个样品膜分成上中下左右五个区域，选取每个区域中全部颗粒进行显微拉曼测试。采集出图谱后与微塑料标准谱图进行对照，匹配度达到 85%以上的目标物方可确定成分。

6.3 通过定性分析得出微塑料颗粒的种类，估算出不同类型微塑料的占比，并以面积为单位，估算整张膜上微塑料的个数，使用五点法，根据所计数的区域面积占整张膜过滤面积的百分比来计算过滤区域的微塑料颗粒数，从而对整个样品进行定量分析。

7 结果计算

根据公式（1）计算土壤中微塑料的丰度：

$$A = \frac{N}{M} \quad (1)$$

式中：

A——土壤中微塑料的丰度，单位为个/kg；

N——微塑料目标物的个数，单位为个；

M——土壤的总质量，单位为 kg。

8 质量控制

8.1 每批样品应做全程序空白，每批次空白样品不少于 3 个。如果测定结果表明全程序有不可忽略的玷污，应查明污染源来源并进行消除。

8.2 应特别注意实验室污染对实验结果的影响，实验前使用酒精擦拭实验台，操作实验过程中应全程穿着棉质实验服。若中途停止实验，需将容器用铝箔封口。

9. 精密度与准确度

精密度和准确度的验证根据 DB21/T 2751 实验室加标空白法进行测定。加标样品的制备方法如下：

将适量已知成分的微塑料颗粒加入 30 g 前处理后的土壤中。制备和分析 5 个实验室加标的平行样，其微塑料丰度宜在 25-30 个/kg。按照规定的操作步骤进行定量和定性分析。根据 5 家实验室对土壤样品进行的实验室加标实验的方法验证，土壤中微塑料的加标回收率为 93%-100%。

土壤环境中微塑料监测技术规范/标准

第 3 部分：傅里叶变换红外光谱-光学显微镜法

1 范围

本标准规定了使用傅里叶变换红外光谱仪对土壤中微塑料测定的方法。

本标准适用于使用傅里叶变换红外光谱仪测定土壤中 0.005-5 mm 的微型料。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件。不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

DB21/T 2751 海水中微塑料的测定 傅里叶变换显微红外光谱法

T/CAQI 367.1-2024 地表水中微塑料的测定 第 3 部分：傅里叶变换显微红外光谱法

T/CAQI 367.2-2024 地表水中微塑料的测定 第 4 部分：傅里叶变换红外光谱法

3 方法原理

使用体式显微镜、高清显微成像仪等常用光学显微成像设备，确定提取的滤膜上的疑似目标物，并对目标物的形貌特征进行记录。然后采用傅里叶变换红外光谱仪对疑似目标物进行谱图采集与分析，将采集到的目标物的红外光谱谱图与相应仪器的标准谱图对比，对疑似目标物进行定性分析。最后，使用 Image J 软件对微塑料的数量进行统计。

4 仪器设备

4.1 制样设备

4.1.1 显微成像设备：体式显微镜或显微成像仪等常用光学显微成像设备。

4.1.2 显微取样针。

4.1.3 无齿不锈钢镊子。

4.1.4 玻璃培养皿。

4.1.5 载玻片。

4.1.6 双面胶。

4.1.7 不锈钢筛网：孔径为 5.0 mm。

4.1.8 真空抽滤装置。

4.1.9 滤膜：孔径为 0.45 μm 的玻璃纤维滤膜。

4.1.10 烘箱。

4.1.11 烧杯：250 mL。

4.2 分析测定设备

4.2.1 傅里叶变换红外光谱仪：波数范围 4000-400 cm^{-1} ，分辨率可达 0.4 cm^{-1} ，配有衰减全反射（ATR）附件以及标准谱图库。

5 仪器工作参考条件

采用 ATR 模式，DTGS 检测器，波数范围 4000-400 cm^{-1} ，分辨率为 4 cm^{-1} ，32 次扫描光。配有红外光谱标准谱图库。

6 样品分析测定

6.1 将滤膜（4.1.9）上的疑似微塑料颗粒用无齿不锈钢镊子（4.1.3）夹出或显微取样针（4.1.2）挑出，放置于载玻片（4.1.5）上，置于 40 倍体式显微镜或显微成像系统（4.1.1）中拍照，标记疑似目标颗粒物，并根据表 A 中相应内容，记录疑似目标颗粒物的形貌特征。

6.2 将傅里叶变换红外光谱仪（4.2.1）中 ATR 附件放于光路中，在软件中进行参数设置，在不放置样品的情况下采集背景。

6.3 在 40 倍体式显微镜下，采用不锈钢镊子（4.1.3）或显微取样针（4.1.2），挑取疑似微塑料目标检测物放于 ATR 晶体表面。

6.4 将 ATR 压力臂，摇下压制在样品表面，应确保样品和晶体紧密接触，随后采集目标物信号。

6.5 将目标物谱图与红外光谱谱图库进行比对，匹配度达到 85%以上的目标物，方可确定最终成分，并记录与表 A。

7 结果计算

使用普通光学显微镜反射式暗场照明。在这种模式下，由于塑料颗粒与其它无机颗粒对外加光源（Cossim LG-10）的折射率不同，只有塑料呈现亮颗粒，而无机颗粒为暗颗粒，膜为暗背景。微塑料的计数采用五点法，即在整个膜过滤区域选择相同面积大小的上、中、下、左、右五个区域，每个区域四倍镜下拍摄 1 张照片，将照片放大到十倍后在视野中，选择两个不会重合且具有代表性的区域拍照，然后将其放大到 20 倍后分为四个象限各拍一张，故每个样品最终会有 20 倍镜下的照片 40 张。用 Image J 软件将照片打开，在软件中每张照片尺寸一致，获得长、宽尺寸，通过计算得到 40 张照片的面积为 11.236 mm^2 ，由于抽滤装置管径为 15 mm，膜过滤面积为 177 mm^2 ，则拍照区域的面积占总过滤面积的 6.35%，用 Image J 软件对这 40 张照片分别进行计数，而后根据结果中的 Frete 直径对试剂中的颗粒进行粒径分析，并计算颗粒总数。

8 精密度和准确度

精密度和准确度的验证根据实验室空白加标法进行测定。样品的制备方法是将适量（0.10-20.0 mg 或一定数量的）聚乙烯微塑料颗粒/碎片（0.5-2.0 mm）加入 100.00 g 纯净无污染土壤中，制备 7 个空白加标的平行样，按本文件规定的操作步骤进行分析。

3 家实验室分别对 30、100、10.0、200 mg/kg 四种不同含量的空白加标样品进行了 7 次重复测定，相对偏差为 2.5%-18.0%，加标回收率在 93%-100%。

9 质量保证

9.1 每批样品应至少做 10%的平行样品测定，样品数不足 10 个时，每批样品应至少做一个平行样品测定，两个平行样品的测定结果的差值的绝对值应不大于平均值的 20%，否则应重新测定。

9.2 应定期校准电子天平。

9.3 应特别注意实验室污染结果的影响，实验前使用酒精擦拭试验台，实验操作过程中应全程穿着棉质实验服，不使用塑料制品的工具和器皿。