中国科学: 化学 2026 年 第 56 卷 第 2 期: 511 ~ 522
SCIENTIA SINICA Chimica chemcn.scichina.com
《中国科学》杂志社 SCIENCE CHINA PRESS
论 文

饮料中微纳米塑料的低成本快速检测法构建及其应用

刘莹[1], 俞永祥[1,2], 刘紫薇[1,2], 江南[1,2*]

1. 武汉工程大学环境生态与生物工程学院, 长江中游生源要素微生物转化与调控湖北省重点实验室, 武汉 430205
2. 武汉工程大学环境生态与生物工程学院, 磷矿及其共伴生资源绿色高效开发利用全国重点实验室, 武汉 430205
*通讯作者, E-mail: 19099101@wit.edu.cn

收稿日期: 2025-11-18; 接受日期: 2025-12-29; 网络版发表日期: 2026-01-26
湖北省教育厅科学研究计划指导性项目(编号: B2024042)和国家自然科学基金(编号: 42277109)资助

摘要 为检测饮料中微塑料与纳米塑料(micro- and nanoplastics, MNPs)释放量, 本研究首先通过预处理将MNPs划分为>50和0.22~50 μm两部分, 可以分别通过荧光显微镜检测及流式细胞术检测进行分析; 继而优化了流式细胞术的门控策略和荧光染色条件, 实现了MNPs信号与背景信号的有效区分; 并最后通过使用MNPs标准珠验证了所构建方法具备>97%的回收率, 证明了该方法适用于pH 3~11的工作环境. 基于所建立的方法, 本研究系统探讨了饮料在储存和消费过程中多重因素对MNPs释放量的影响. 结果表明, 储存时间增加、温度降低、冻融循环增加以及振动延长与开瓶次数增加均显著增加MNPs释放量, 并促进大颗粒MNPs进一步解离. 经济性核算显示, 本方法的单样本检测时间约为7~8 min, 成本为10.74元/样, 具备每月千样以上的检测能力. 本研究构建的MNPs检测法具有快速、低成本的优势, 可广泛应用于饮料产品中MNPs的快速检测和生产质量控制.

关键词 微塑料, 纳米塑料, 饮料, 流式细胞术, 尼罗红

1 引言

伴随塑料制品的普遍使用与丢弃, 微塑料与纳米塑料(micro- and nanoplastics, MNPs)已经普遍存在于环境中, 并经过多重途径进入人体[1]. MNPs可以是其他污染物的载体[2], 其自身也可诱导细胞氧化应激、线粒体功能紊乱、炎症通路激活与核酸损伤[3]. 基于小鼠的动物实验则进一步指出MNPs可导致肠道屏障受损、免疫功能改变、生殖/发育毒性以及神经行为学变化等多重损伤[4,5]. 人体样本中检测到消化道、脑组织与肝、肾脏器中明显累积有多种塑料的MNPs, 且在痴呆病例中发现有更高水平的MNPs积累[6~8]. MNPs对人类健康的潜在威胁引发了公众及相关研究者对MNPs暴露途径的高度关注. 其中, 饮食被认为是人类暴露MNPs的主要途径之一[9,10]. 尤其是以塑料作为主要包装的饮料, 被认为是MNPs暴露的重要与可量化来源[1,11].

MNPs的检测技术近年来取得显著进展. 其中, 光学显微镜镜检和傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared spectroscopy, FTIR)测定能够实现5 μm

引用格式: Liu Y, Yu Y, Liu Z, Jiang N. Development of a low-cost and rapid detection method for micro- and nanoplastics in beverages and its application. *Sci Sin Chim*, 2026, 56: 511–522, doi: 10.1360/SSC-2025-0291

© 2026 《中国科学》杂志社

以上颗粒的定性与定量检测[12,13]. 对于成分复杂的液体样本, 拉曼光谱与热裂解气相色谱-质谱联用(pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry, Py-GC/MS)被证明在识别饮料瓶MNPs释放上具有更高分辨率和化学特异性[14,15]. 流式细胞术与荧光标记技术的结合为液体饮料中纳米级颗粒检测提供了新的思路. 尼罗红(nile red, NR)荧光标记与流式细胞术的结合, 可快速完成液体中的MNPs浓度的定量[16,17]. 饮料液体复杂的液体成分以及消费者的饮用行为会显著改变其中MNPs的释放. 一方面, 饮料的储存时间和类型(如高糖、含碳酸)会影响MNPs的释放[18,19]. 而运输及使用过程中存在的振动等行为产生的气泡会促进饮料的塑料瓶壁释放出MNPs[20]. 另一方面, MNPs的检测方法不仅缺乏统一的标准[21,22], 更需要相对昂贵的测试成本. 基于显微镜、FTIR及Py-GC/MS的MNPs检测被报道测试成本高达158~1687欧元/样[23]. 这严重限制了MNPs检测推广的可能[24,25]. 因此, 建立高效、低成本的MNPs检测方法至关重要.

流式细胞术检测能快速实现小颗粒MNPs的高通量检测[16,17], 而荧光显微镜镜检将能检测较大颗粒的MNPs[12]. 基于此, 本研究结合这两种检测技术实现了对含糖碳酸饮料这一复杂饮料中MNPs释放量的快速、低成本检测. 饮料塑料瓶的化学成分为聚对苯二甲酸乙二醇酯(polyethylene terephthalate, PET)[26]. 因此, 我们通过使用PET标准珠对所建立MNPs检测法的有效性进行了检测. 基于该检测法, 我们系统研究了储存时间、温度、冻融循环、振动及开瓶次数变化对饮料样本MNPs释放量的影响, 并对该方法的经济性进行了核算.

2 实验部分

2.1 试剂与材料

NR染料购自阿拉丁公司(中国). PET标准珠购自江苏智川科技有限公司(中国). 十二烷基磺酸钠(sodium 1-dodecanesulfonate, SDS)、盐酸(HCl)、氢氧化钠(NaOH)以及所用溶剂均购自国药集团化学试剂有限公司(中国). 所用纯度为分析纯或特殊说明. 实验所用饮料为市售一款容积为300 mL的柠檬味汽水饮料, 保质期为9个月, 其营养成分表显示每100 mL该饮料含8.60 g糖.

化学试剂使用分析天平THZ-103B (上海一恒科学仪器有限公司, 中国)称量, pH值通过电化学工作站FE-28 (Mettler Toledo公司, 瑞士)测定, 样品处理使用了摇床AR124CN (奥豪斯仪器(上海)有限公司, 中国). 流式细胞术相关实验通过流式细胞仪CytoFLEX (贝克曼公司, 中国)测定, 白场及荧光显微镜图片通过倒置荧光显微镜IX73 (Olympus公司, 日本)拍摄. 显微镜下MNPs计数通过使用血球计数板XB-K-25 (上海求精仪器有限公司, 中国)完成.

2.2 实验方法

2.2.1 检测方法构建

本研究首先通过预处理将MNPs划分为>50和0.22~50 μm两部分, 从而分别通过荧光显微镜检测及流式细胞术检测进行分析; 继而对流式细胞术的门控策略和荧光染色条件进行优化, 以实现MNPs信号与背景信号的有效区分; 从而以此构建饮料中MNPs释放检测方法, 对多重使用环境下饮料MNPs释放量进行检测(图1).

10 mg NR被溶解在10 mL甲醇中, 充分振荡以形成1 mg/mL的储液. NR储液使用前需要超声处理10 min, 并通过孔径为0.22 μm的滤膜以防止NR自聚现象. 300 mL饮料样品首先通过孔径为50 μm的钢制试验筛, 并使用去离子水(diH_2O)冲洗3次. 筛分所得MNPs (>50 μm)通过diH_2O冲下来, 烘干后使用0.05% (w/v) SDS溶液重悬. 筛分所得滤液合并冲洗液通过孔径为0.22 μm的滤膜, 继而使用0.05% (w/v) SDS溶液重悬滤膜所得MNPs (0.22~50 μm). 所得两种MNPs悬浊液中加入NR储液以形成浓度为5、10、20 μg/mL的工作液, 避光染色30 min. 染色后的MNPs (>50 μm)通过使用血球计数板及倒置荧光显微镜进行成像及计数. 荧光成像使用GW模块(激发: 530~550 nm, 发射: 575~625 nm), 图像使用20× (NA 0.45)和40× (NA 0.6)镜头收取. 所得MNPs (0.22~50 μm)、0.05% (w/v) SDS溶液及20 μg/mL的NR工作液通过流式细胞仪进行分析. 测试时激发光为488 nm, 收取PE-Texas Red通道(660 nm ± 10 nm), 进样流速10 μL/min, 每样本固定分析30000颗粒(particles), 所得结果以流式仪所附软件完成分析.

该部分实验在确认使用浓度为10 μg/mL的NR工作液染色后, 将玻璃瓶盛放的300 mL diH_2O按以上步

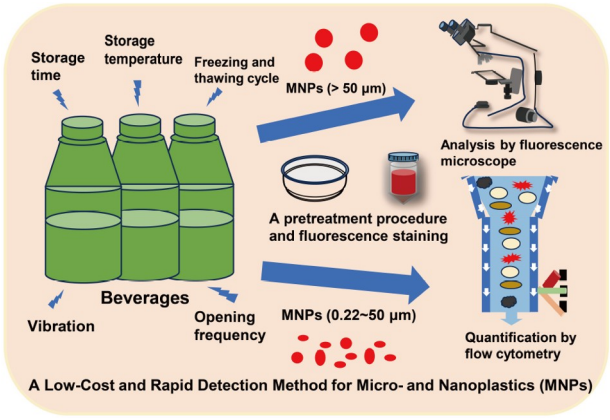


图 1　(网络版彩图) MNPs低成本快速检测法的构建及其在检测多重使用环境下饮料MNPs释放量中的应用

Figure 1　(Color online) Development of a low-cost and rapid detection method for MNPs and its application in assessing MNPs release from beverages under multiple conditions.

骤处理并进行流式细胞仪分析及荧光显微镜成像，以判断因处理过程中MNPs引入等因素带来的系统性误差. 随后我们通过测试PET标准珠来建立0.22~50 μm的MNPs大小与NR荧光信号的对应关系. 直径为1、5、10、20 μm的PET标准珠被重悬于适量的0.05% (w/v) SDS溶液中, 充分振荡以形成悬浊液, 加入NR储液以形成浓度为10 μg/mL的工作液，避光染色30 min. 染色后的PET标准珠如上依次开展显微镜成像及流式细胞术分析，并根据流式细胞术分析的荧光定量结果得到PET标准珠直径与荧光强度的对应关系.

2.2.2　基于流式细胞术的MNPs检测法的回收率及pH适用性验证

以上基于流式细胞术的MNPs检测法的可靠性通过计算回收率进行验证. 将直径为10 μm的PET标准珠重悬于适量的0.05% (w/v) SDS溶液中, 以形成浓度为10^6、10^7、10^8 particles/L的悬浊液，取1 mL所得悬浊液分别加入300 mL饮料样品，如上述处理得到MNPs (0.22~50 μm)悬浊液，使用浓度为10 μg/mL的NR工作液避光染色30 min, 继而如上完成流式细胞术分析, 并根据相关报道中回收率的计算方法得到对应回收率[27].

检测法的pH适应性则通过检测多种饮料可达到pH环境下PET塑料杯中MNPs释放量来验证. 该部分通过添加适量的HCl及NaOH，使得PET材质塑料杯中的溶液pH为3、5、7、9、11，避光室温静置48 h. 以上5组浸出液按如上方法处理并开展流式细胞术分析.

2.2.3　多重使用场景下饮料中MNPs释放检测

该部分模拟5种消费者饮用饮料前普遍存在的场景来分别处理饮料样本，并如上使用浓度为10 μg/mL的NR工作液避光染色30 min，分别通过流式细胞术分析及显微镜观察计算MNPs (0.22~50 μm)及MNPs (>50 μm)的数量.

其中, 储存时间对MNPs释放影响的实验分别使用了出厂时间为0.5、4.5、10个月且避光保存的饮料样本，以分别代表新鲜储存(fresh)、正常储存(common)以及过期储存(expired)这三种不同储存时间的饮料样本. 储存温度对MNPs释放影响的实验中室温、冷藏、冷冻样本测试前分别在25℃、4℃及−18℃下避光保存10 h, 其中饮料会在−18℃的储存环境下冻结凝固，因此冷冻样本测试前需25℃水浴1 h解冻. 振荡对MNPs释放影响的实验是将饮料样本在室温并通过摇床以160 r/min的转速分别振荡0、30、60 min. 冻融循环次数对MNPs释放影响的实验则通过16 h的−18℃的冷冻储存以及8 h的25℃水浴解冻，使得饮料样本分别经历1、2、3次冻融循环. 瓶盖开启次数对MNPs释放影响的实验则由实验人员在室温、1个标准大气压环境下开启并关闭饮料瓶盖1、5、10次.

本研究所用饮料样本，除以上已说明处理条件的实验组外，测试前储存时间为4.5个月，在避光、室温、静置储存. 所有实验无特殊说明则均平行3次. 相关数据在进行t-分析后，统计学显著性标识为: ns, $p \geqslant 0.05$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$.

3　结果与讨论

3.1　MNPs检测方法的构建及验证

3.1.1　饮料MNPs释放情况预测及检测方法构建

本研究旨在饮料样品中建立快速、低成本的MNPs释放量检测法，并选定了含糖0.086 g/mL的碳酸饮料为测试样本. 所建立的检测法还需要在饮料饮用前不同的状态下(图S1，网络版补充材料)均能完成MNPs释放量的检测.

流式细胞术能完成颗粒物的高通量筛选，但较大颗粒物容易造成其管道堵塞[28]. 显微镜镜检利于检测

较大的颗粒物, 但耗时长[29]. 为此, 本研究首先通过第2.2.1节所述的样品预处理过程, 将饮料样中制备为大颗粒MNPs (>50 μm)以及小颗粒MNPs (0.22~50 μm). 这两部分MNPs经过NR染色后, 分别用于显微镜计数及流式细胞术检测. 如图S2和S3所示, 经过NR染色的MNPs (>50 μm)与用于对照的直径为20 μm的PET标准珠在荧光模式下呈现明亮的橘红色荧光, 利于显微镜成像. 此外, 与PET标准珠呈现规则球状不同, 饮料样品释放的MNPs形貌不规则, 除类似球形颗粒外可观测到长条形颗粒, 并且同视野下可观测的颗粒数较少.

所选样品中MNPs主要源自饮料的塑料瓶壁. 注塑工艺的高压、填充液体的冲刷作用、碳酸饮料释放二氧化碳(CO_2)气泡的物理作用以及其较低pH (饮料样品pH 3.12 ± 0.02)均会增加MNPs的释放量[18,20,30]. 以上途径释放的MNPs形貌不均一, 与所观测情况一致. 此外, Chen等[18]报道了碳酸水释放>1 μm MNPs的浓度约为50~300 particles/L, 这也解释了为何显微镜视野下可观测MNPs (>50 μm)较少, 这使得本研究需要观测多个视野以求取平均值.

3.1.2 流式细胞术中门及染色浓度选择策略

如图2a~c所示, 用于染色标记MNPs的NR在标识的P1门内呈现聚集, 这是因为NR的疏水性导致其在水溶液体系中会不稳定并产生团聚[31]. 本研究使用0.05% (w/v) SDS溶液用于制备测试液, 部分解决了NR的疏水性问题, 并使得SDS溶液的背景信号值与NR的信号值在流式术散点图上有较清晰的区分. 未经NR染色饮料样品释放的MNPs的散点图信号与SDS溶液的背景信号部分重叠, 因而其释放量的检测可能会被干扰.

我们进一步测试了经5、10、20 μg/mL的NR染色后饮料样品中MNPs对应的散点图分布. 如图2d~f所示, 经过NR染色后的MNPs在散点图分布上逐渐与SDS溶液的背景信号分群, 并且在10 μg/mL的NR染色下区分最为明显. 在同时考虑测试成本及有效性的前提下, 本研究选择了10 μg/mL作为后续实验的NR染色浓度, 并将该浓度对应散点图中的P2门区域标识为MNPs的信号, 其他样本散点图的相应位置也标识为P2以方便对比. 这一优化结果也与同样基于流式细胞术检测MNPs释放的相关研究成果保持一致[32], 并且我们的染色及流式术门选择策略使得MNPs信号所在

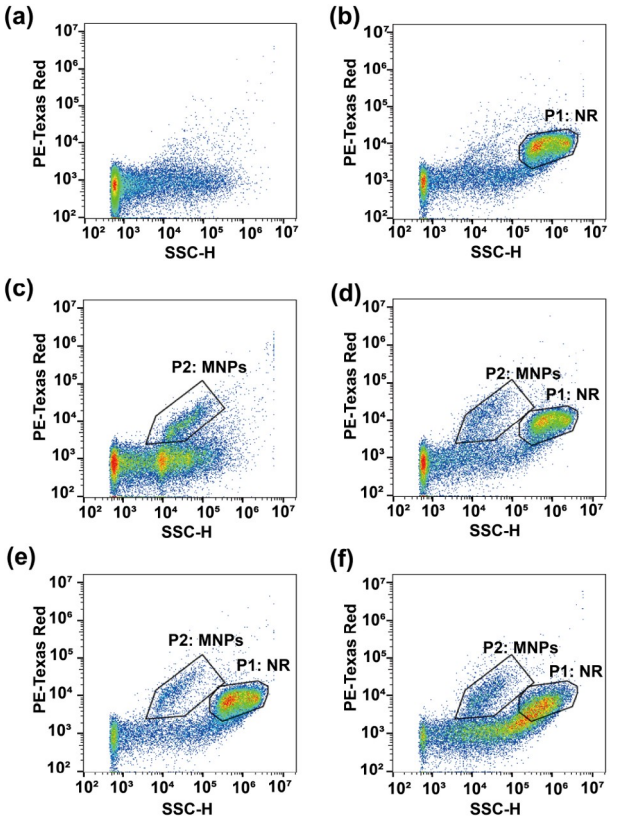


图 2 (网络版彩图)基于流式细胞术的MNPs检测法中门及染色浓度的选择策略. (a) 0.05% (w/v) SDS溶液的流式术散点图. (b) 20 μg/mL的NR染色液的流式术散点图. (c) 饮料所得MNPs (0.22~50 μm)的流式术散点图. (d) 饮料所得MNPs (0.22~50 μm)经5 μg/mL的NR染色后的流式术散点图. (e) 饮料所得MNPs (0.22~50 μm)经10 μg/mL的NR染色后的流式术散点图. (f) 饮料所得MNPs (0.22~50 μm)经20 μg/mL的NR染色后的流式术散点图

Figure 2 (Color online) Strategy for gate selection and staining concentration for the detection of MNPs by flow cytometry. Flow cytometry scatter plots of 0.05% (w/v) SDS solution (a), 20 μg/mL NR staining solution (b), MNPs (0.22–50 μm) isolated from the beverage (c), MNPs (0.22–50 μm) stained with 5 μg/mL NR (d), MNPs (0.22–50 μm) stained with 10 μg/mL NR (e), and MNPs (0.22–50 μm) stained with 20 μg/mL NR (f).

门与背景信号值、NR信号的区分更加显著, 更有利于精准计算MNPs释放量. 但是由于所选P2门区域即使在仅有SDS溶液或NR染色液的散点图中也存在部分弥散点, 并且预处理及测试过程可能引入其他来源MNPs; 本研究遂使用所建立的MNPs检测法测定了玻璃瓶盛放的300 mL diH_2O的MNPs释放情况. 如图S4所示, 荧光显微镜成像无法找到>50 μm的MNPs. 而流式细胞术检测到的MNPs是图2e中饮料样本MNPs释放量的1.33%. 通过对比图2与图S4, 该误差应主要来自

于流式细胞术门选择时无法避免的弥散点，属于该检测技术系统误差的一部分. 相较于已有报道[32]，我们的检测法使得MNPs信号所在门与背景信号值、NR信号的区分更加显著，反而能尽量减少该系统误差对测定值的影响.

3.1.3　MNPs检测方法的有效性验证

我们进一步通过测试PET标准珠对所建立MNPs检测方法的有效性进行了验证. 如图S3所示，直径为1、5、10、20 μm的PET标准珠经10 μg/mL的NR染色后在显微镜荧光模式下均呈现明亮橘红色荧光，粒径分布均匀且符合对应的直径大小. 这些PET标准珠样本所产生信号在流式术散点图中与SDS溶液的背景信号值及NR信号分群明显, 所产生荧光的强度与其直径呈正比例关系(图3a~d). 我们遂将不同直径的PET标准珠的平均荧光强度作为划分后续实测饮料样本中1~50 μm MNPs颗粒大小分布的依据.

以上基于流式术的MNPs检测法还有着较好的回收率及pH适应能力. 如图3e所示，掺杂在饮料样本中的PET标准珠(直径为10 μm)在10^6~10^8 particles/L的浓度中均能保持97%以上的回收率. 如图3f所示, 我们的检测法在pH 3~11的样本中均能完成对PET材质容器壁MNPs释放量的测试与定量.

该部分结果证明，我们的方法可以有效检测饮料样本MNPs释放情况. 一方面，基于PET标准珠的实验结果不仅证明了图2中门及染色浓度选择策略的合理, 其中的回收率实验还进一步证明了基于该方法所计算出的饮料样本中MNPs释放量(约等于10^7 particles/L)的合理性. 另一方面，该方法对pH 3~11环境下PET塑料杯的MNPs释放量的测定结果与同样基于流式术的已报道值基本趋于一致[32]，仅因样本处理方法及参数设置不同存在部分差异. 这进一步佐证了我们检测法的有效性. 此外, pH 3~11也基本覆盖了市场常见饮料的实际pH范围[33~35]，这显示本检测法还能适于矿泉水这类中性样本以及茶水等碱性样本.

3.2　饮料在多重使用环境下MNPs释放量的检测

3.2.1　储存时间

我们首先测试了储存时间长短对饮料中MNPs释放量的影响. 考虑到饮料到达消费者前存在物流、仓储及销售等因素，本研究采用储存时间为4.5个月的饮料样本为对照组, 以此代表饮料的正常储存时间, 而以储存时间为0.5个月及10个月的样本来代表饮料的新鲜储存以及过期储存时间. 如图4所示, 储存时间为4.5个月的样本中0.22~1 μm的MNPs释放量为$9.14 \times 10^6 \pm 1.34 \times 10^5$ particles/L, 1~50 μm的MNPs释放量为$3.02 \times 10^4 \pm 4.77 \times 10^2$ particles/L, >50 μm的MNPs释放量为$5.15 \times 10^2 \pm 0.41 \times 10^2$ particles/L. 相较于储存时间为4.5个月的样本, 储存时间为0.5个月的样本中各个粒径范围的MNPs释放量均无显著增加. 与之相反，储存时间为10个月的样本中MNPs (0.22~50 μm)的释放量则显著增加，特别是<1 μm的MNPs释放量相较于储存时间为4.5个月的样本增加了77.24% ($p = 2.73 \times 10^{-4}$). 而

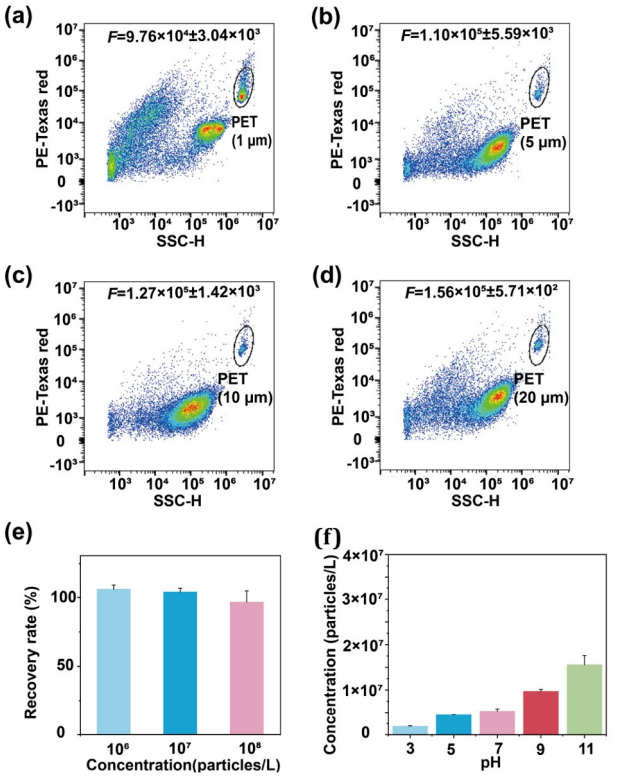


图 3　(网络版彩图)基于流式细胞术的MNPs检测法的验证实验. (a) 直径为1 μm的PET标准珠的平均荧光强度(F)及流式术散点图. (b) 直径为5 μm的PET标准珠的平均荧光强度及流式术散点图. (c) 直径为10 μm的PET标准珠的平均荧光强度及流式术散点图. (d) 直径为20 μm的PET标准珠的平均荧光强度及流式术散点图. (e) 回收率. (f) pH 3~11环境下PET塑料杯的MNPs释放量

Figure 3　(Color online) Validation of the flow cytometry-based method for MNPs detection. Mean fluorescence intensity (F) and scatter plots of PET standard beads with diameters of 1 μm (a), 5 μm (b), 10 μm (c), and 20 μm (d). (e) The recovery rate. (f) MNPs release from PET plastic cups at pH 3–11.

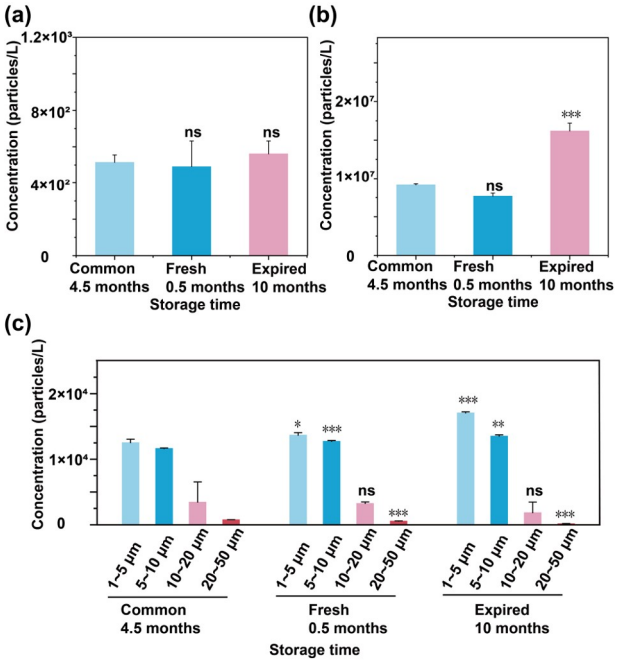


图 4 (网络版彩图)不同储存时间饮料中MNPs释放情况. (a) >50 μm MNPs, 基于显微镜成像完成计数. (b) 0.22~1 μm MNPs和 (c) 1~50 μm MNPs, 基于流式细胞术完成计数. 统计学显著性标识为: ns, $p \geq 0.05$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$

Figure 4 (Color online) Release of MNPs in beverages over different storage times. (a) MNPs >50 μm, quantified by microscopic imaging. (b) MNPs of 0.22–1 μm (c) and 1–50 μm, quantified by flow cytometry. The statistical significance is denoted as follows: ns, $p \geq 0.05$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$.

储存时间为10个月的样本中>1 μm的MNPs释放量也明显高于其他样本. 当储存时间为10个月时, 样本所测得的1~10 μm的MNPs释放量相较于其他储存时间的样本更高, 但10~20 μm及20~50 μm的MNPs释放量相对于储存时间为0.5个月的样本分别下降了46.46% ($p = 0.47$)和78.20% ($p = 8.72 \times 10^{-7}$). 此外, 我们在显微镜下能观测到的>50 μm的MNPs释放量有增加(图S5).

以上结果显示过期储存将显著增加饮料中MNPs的释放量. 生产日期新鲜与否是影响消费者选购饮料的敏感因素[35]. 储存时间的延长又会加剧PET瓶壁的老化与裂解[36]. 基于我们的检测方法, 储存时间为4.5个月的饮料中<1 μm的MNPs含量最高, 占总释放量的996.65‰, 其余1~50 μm及>50 μm的MNPs释放量各占比3.29‰及0.06‰. 因此, <1 μm的MNPs释放量基本决定了MNPs的整体释放量, 而更小的MNPs能造成更大的环境危害和人体毒性[37,38]. 图4表明, 相较于该饮料9个月的保质期, 正常储存时间(4.5个月)并不会比新鲜储存的样本(0.5个月)显著释放更多的MNPs. 与之相反, 过期储存的饮料样本(10个月)显著性增加了<1 μm的MNPs释放量. 通过预处理及使用PET标准珠的荧光值作为参照, 我们的检测法还能对样本中>1 μm的MNPs释放量做出更精细的区分. 有趣的是, 储存时间为10个月的样本中>50 μm的MNPs释放量增加, 而10~50 μm的MNPs释放量降低. 这可能是因为一方面储存时间的增长会使得原本较大的MNPs进一步解离[18], 而另一方面会造成较大颗粒的MNPs从老化的瓶壁上剥离下来[39]. 这一结果意味着过期储存不仅可能会导致饮料变质, 更可能通过增加MNPs释放量带来健康上的潜在风险.

3.2.2 储存温度

消费者饮用碳酸类饮料前, 经常会将其冷藏或者冰冻以增强其口感. 因此, 我们使用储存时间为4.5个月的样本进一步测试了不同储存温度下饮料中MNPs的释放量. 如图1所示, 饮料样本在冷冻后瓶内液体会全部结冰. 如图5所示, 相较于室温储存(25℃), 冷藏(4℃)及冷冻(−18℃)的储存温度均会增加MNPs的整体释放量. 冷藏及冷冻储存样本中<1 μm的MNPs释放量相较于室温储存增加了34.98% ($p = 2.00 \times 10^{-3}$)和96.85% ($p = 1.05 \times 10^{-6}$). 对于>1 μm的MNPs, 冷藏及冷冻储存样本的释放量变化趋势与长期储存样本(10个月)的变化趋势趋于一致. 显微镜下能观测到冷冻样本中>50 μm的MNPs有进一步解离的趋势(图S6).

饮用前的低储存温度能明显增加饮料中MNPs释放量. 一方面, 相较于非碳酸饮料, 冷藏储存会显著促进碳酸饮料的MNPs释放. Zhou等[40]在研究废弃的塑料水杯时发现温度降低并未增加MNPs的释放, 这可能是因为冰点前的温度降低不能明显改变塑料机械性能, 而水中受温度影响的溶解气体对器壁影响也并不显著. 我们的结果与同样研究碳酸饮料的Chen等[18]的结果趋于一致, 这是因为冷藏储存使得CO_2溶解度更高, 从而提高瓶壁压力以促进MNPs释放. 另一方面, 冷冻储存不仅使塑料变脆[41], 更会使得瓶中液体结冰膨胀, 从而通过挤压瓶壁来引发塑料脆化开裂[42]. 因此, 饮用前的冷冻储存及化冻过程实际上使得饮料样本经历了一次冻融循环, 从而增加了接近一倍的MNPs释放量, 并使得大颗粒MNPs的解离趋势加剧.

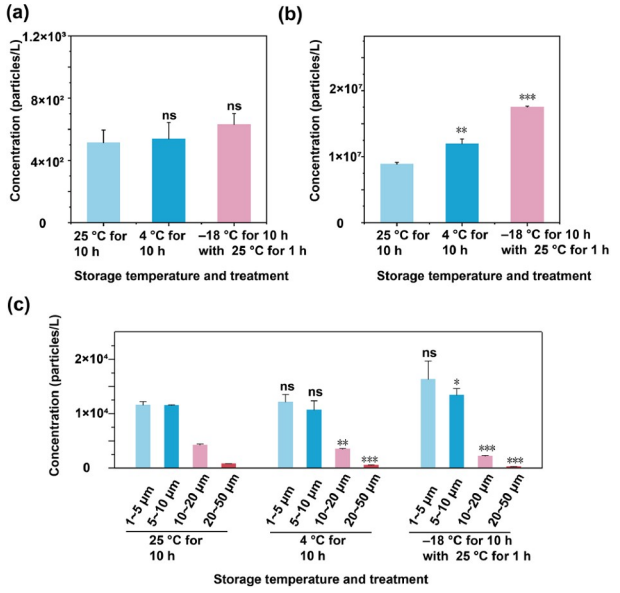


图 5　(网络版彩图)不同储存温度下饮料中MNPs的释放情况. (a) >50 μm MNPs, 基于显微镜成像完成计数. (b) 0.22~1 μm MNPs和 (c) 1~50 μm MNPs, 基于流式细胞术完成计数. 统计学显著性标识为: ns, $p \geqslant 0.05$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$

Figure 5　(Color online) Release of MNPs in beverages over different storage temperatures. (a) MNPs >50 μm, quantified by microscopic imaging. (b) MNPs of 0.22–1 μm, and (c) MNPs of 1–50 μm, quantified by flow cytometry. The statistical significance is denoted as follows: ns, $p \geqslant 0.05$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$.

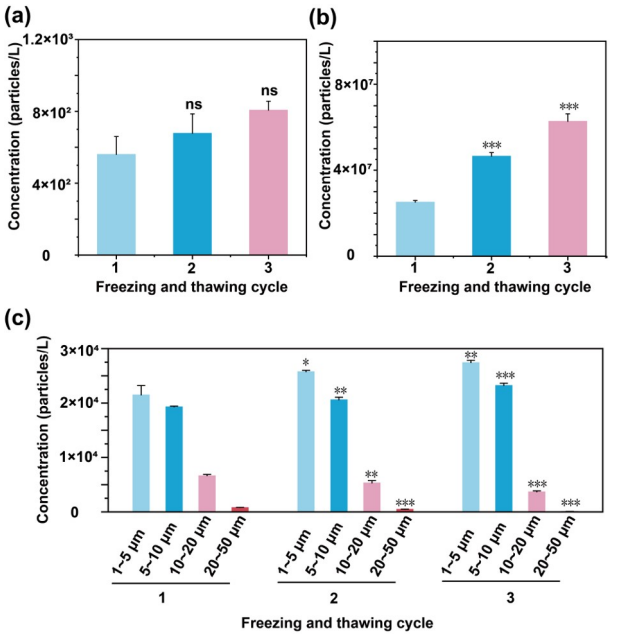


图 6　(网络版彩图)饮料在不同冻融循环后MNPs释放情况. (a) >50 μm MNPs, 基于显微镜成像完成计数. (b) 0.22~1 μm MNPs和(c) 1~50 μm MNPs, 基于流式细胞术完成计数. 统计学显著性标识为: ns, $p \geqslant 0.05$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$

Figure 6　(Color online) Release of MNPs in beverages with varying freezing and thawing cycles. (a) MNPs >50 μm, quantified by microscopic imaging. (b) MNPs of 0.22–1 μm, and (c) MNPs of 1–50 μm, quantified by flow cytometry. The statistical significance is denoted as follows: ns, $p \geqslant 0.05$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$.

我们在显微镜下观测到的大颗粒MNPs (>50 μm)有进一步解离的趋势佐证了这一观点.

3.2.3　冻融循环

我们通过增加1~3次的冻融循环来检测饮用前的反复解冻行为对于饮料中MNPs释放量的影响. 如图6所示, 经历1次冻融循环的饮料样本中0.22~1 μm的MNPs释放量为$2.52 \times 10^7 \pm 7.50 \times 10^5$ particles/L, 1~50 μm的MNPs释放量为$4.83 \times 10^4 \pm 1.80 \times 10^3$ particles/L, >50 μm的MNPs释放量为$5.60 \times 10^2 \pm 0.99 \times 10^2$ particles/L. 冻融循环次数的增加会明显增加样本中MNPs释放量. 对于<1 μm的MNPs, 饮料样品经历2及3次冻融循环后释放量比1次冻融循环显著性增加84.92% ($p = 3.27 \times 10^{-5}$)及149.21% ($p = 5.08 \times 10^{-5}$). 与储存温度影响一致, 冻融循环次数的增加也导致了10~50 μm的MNPs释放量降低以及其他>1 μm的MNPs释放量的增加. >50 μm的镜检结果如图S7所示.

相较于冷藏及冷冻, 运输及饮料消费者行为导致的冻融循环将引起更多MNPs的释放. 在设置冻融循环周期时, 本研究将一次冻融循环设置为−18℃的冷冻储存16 h及25℃水浴解冻8 h, 冷冻时间超过第3.2.2节中的−18℃的冷冻储存10 h. 更长的冷冻时间并不能增加饮料结冰后的体积, 但会进一步增加瓶壁的损伤[18]. 这导致了相较于冷冻样本, 1次冻融循环会使得饮料样本中0.22~1 μm的MNPs释放量增长超过1/3. 而冻融循环次数的增加, 则会在此基础上进一步增加接近1.5倍的MNPs释放量, 从而最终使得经历过3次冻融循环的饮料样本中MNPs的释放量超过6倍常温样本的释放量. 急剧增加的MNPs将可能给饮用者健康带来较大影响. 因此, 具备饮用前冰冻储存这一习惯的消费者应当尽量避免反复冻融他们的饮料.

3.2.4　振荡时间

饮料的运输和饮用前都可能经历振荡[43]. 为此, 我

们设置摇床转速为160 r/min，将样本振荡了0~60 min. 如图S1所示，饮料样本振荡后，可观测到密集的气泡出现并上浮. 样本静置约5 s后产生的气泡会完全消散. 如图7所示，30及60 min的振荡使得<1 μm MNPs的释放量相较于静置状态显著增加了10.18% (p = 7.22 × 10^{-3})和40.49% (p = 1.74 × 10^{-4}). 对于>1 μm的MNPs, 振荡时间延长会在增加1~10 μm MNPs释放量的同时减少10~50 μm MNPs释放量. 图7及显微镜结果(图S8)显示, 相较于静置, 振荡使得>50 μm的MNPs释放量略微增加，但振荡时间的延长无助于提高>50 μm的MNPs释放量.

以上振荡行为促进MNPs释放的原因一方面是振荡时CO_2气泡的产生以及破裂，会通过产生冲击波的方式对塑料瓶内壁施加压力，导致附着在瓶壁上的MNPs脱落. 另一方面，振荡还会促进气泡与MNPs相互作用[20], 从而使得气泡携带MNPs进入饮料. 振荡时间的进一步延长不能增加>50 μm的MNPs释放量，这可能是因为机械剥离的作用点已耗尽，使得进一步延长振荡时间对剩余的、更牢固附着的较大颗粒的剥离效果趋于饱和[18].

此外，本研究中振荡时间远高于大多数消费者饮用前的手摇振荡所持续的时间，而30 min的振荡仅提升了约10%的MNPs释放量, 这远小于储存时间、温度对MNPs释放量的影响. 因此，饮用前的振荡行为对消费者健康的潜在影响较小. 然而, 饮料在货运过程中所经历的振荡却未被记录及量化，所形成的CO_2气泡将在到达消费者前完全消失，所造成的潜在健康威胁需要引起注意.

3.2.5 开盖次数

与以上直接振荡类似，饮料在开瓶瞬间也会出现液体振荡现象[44]. 因此，本研究最后检测了1~10次开盖次数对于MNPs释放量的影响. 如图8所示，相较于正常使用情况下的1次开盖次数，开盖次数达到5次及10次的使用行为将显著增加<1 μm MNPs释放量的26.49% (p = 0.050)和56.76% (p = 2.30 × 10^{-4}). 此外, 开盖次数的增加会在增加1~20 μm MNPs释放量的同时减少20~50 μm MNPs释放量. 结合图S9的显微镜成像，我们还发现开盖次数的增加在略微增加>50 μm MNPs释放量的同时可能也增加了其进一步解离的趋势.

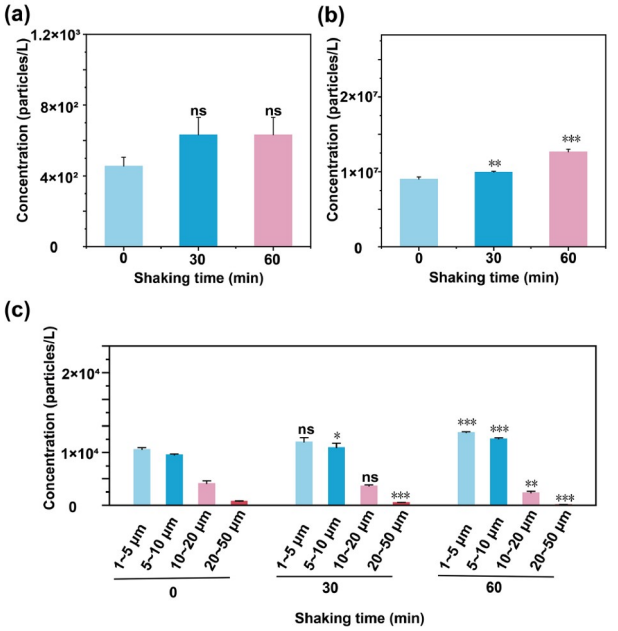


图 7 (网络版彩图)饮料在160 r/min的转速下振荡不同时间后MNPs释放情况. (a) >50 μm MNPs, 基于显微镜成像完成计数. (b) 0.22~1 μm MNPs和 (c) 1~50 μm MNPs, 基于流式细胞术完成计数. 统计学显著性标识为: ns, $p \geqslant 0.05$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$

Figure 7 (Color online) Release of MNPs from beverages after agitation at 160 r/min for different durations. MNPs >50 μm, quantified by microscopic imaging (a). (b) MNPs of 0.22–1 μm, and (c) MNPs of 1–50 μm, quantified by flow cytometry. The statistical significance is denoted as follows: ns, $p \geqslant 0.05$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$.

由于所测样本是加压注入CO_2的碳酸饮料，所以在开盖瞬间高压的饮料液体会增加塑料瓶内壁MNPs被冲刷下来的概率，而这一过程中CO_2气泡的产生以及破裂也会通过产生冲击波来增加MNPs的释放[45]. 这一现象与振荡引起的MNPs释放类似，但MNPs释放量的增长幅度却更高. 此外，开盖次数的增加使得20~50 μm MNPs释放量减少，而非之前的10~50 μm MNPs释放量减少，并能使>50 μm MNPs解离趋势进一步增加. 这可能是因为开盖行为还造成了塑料瓶盖与瓶口的机械摩擦[46]，更利于造成较大MNPs的解离. 因此，为降低MNPs的潜在威胁，消费者被建议应当减少开盖次数, 尽量在第一次开启后就享用完饮料. 另一方面, Chen等[18]通过多次对碳酸水充气后发现, 3次重复充气处理将使得塑料瓶MNPs去除率达到91.65%~93.18%. 因此，生产厂商在工厂阶段就对饮料瓶注入碳酸水, 并开展连续的振荡及充气处理, 将有助于降低饮料填注后对瓶壁MNPs释放量的促进作用.

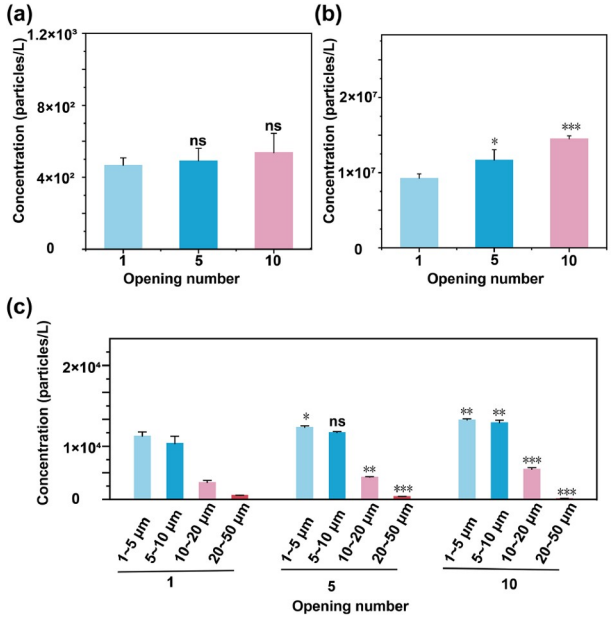


图 8　(网络版彩图)饮料在不同开盖次数后MNPs释放情况. (a) >50 μm MNPs, 基于显微镜成像完成计数. (b) 0.22~1 μm MNPs和 (c) 1~50 μm MNPs, 基于流式细胞术完成计数. 统计学显著性标识为: ns, $p \geqslant 0.05$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$

Figure 8　(Color online) Release of MNPs from beverages after different opening numbers. (a) MNPs >50 μm, quantified by microscopic imaging. (b) MNPs of 0.22–1 μm and (c) MNPs of 1–50 μm, quantified by flow cytometry. The statistical significance is denoted as follows: ns, $p \geqslant 0.05$; *, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$.

3.2.6　MNPs检测方法的经济性核算

基于市场化考虑, 我们最后对所建立的MNPs检测方法的时间及经济成本进行了核算. 如表1所示, 每个样本的时间成本约为7~8 min, 并且每一批样本需要25 h的集中处理时间. 经济成本上, 每个样本的检测成本在实验室阶段为10.74元/样. 该计算结果考虑了本研究能在国内能购买的试剂耗材价格、设备维护费用及适当的人员费用(约8000元/月).

我们的设计策略保证了所构建MNPs检测法的高效和低成本. Py-GC/MS检测[14,15]、荧光立体显微镜 + μ-FTIR检测法[12,13]均被用于检测MNPs, 但却缺少流式细胞仪的高通量分析能力. 我们通过样品处理, 将释放量高达10^6~10^7 particles/L的<50 μm的MNPs通过流式细胞仪的高通量分析能力完成计数, 将浓度仅为10^2 particles/L的>50 μm MNPs通过荧光显微镜检测法检测. 根据我们的检测结果, 1~50 μm的MNPs释放量比>50 μm的MNPs释放量高10^2. 因此, 这一处理显著减少了显微镜镜检所需要的时间及劳动成本, 也避免了流式细胞仪管道被较大的MNPs堵塞. 本研究整体样本测试量约为198~234瓶饮料. 即使仅根据实验室小批量的测定数据估算, 我们的检测方法依旧具备每月1000样以上的测定能力, 且测试成本远低于已有报道的158~1687欧元/样[23]. 以上成本将伴随测试规模的增加而进一步降低, 进而充分满足相关生产企业的检测需求.

4　结论

本研究建立了一种快速、低成本的MNPs释放量检测法. 该方法将饮料中的MNPs分为>50与0.22~50 μm两部分, 分别采用荧光显微镜与流式细胞术进行检测. 我们首先优化了流式细胞术检测的门控策略与染色浓度, 实现了MNPs信号与背景信号的有效区分, 继而通过使用PET标准珠验证了检测法的回收率>97%, 并证明了该方法在pH 3~11范围内均可准确检测MNPs释放量. 基于该方法, 我们发现饮料储存时间增加、温度降低、冻融循环增加、振荡及开盖次数增加均会显著增加MNPs释放量, 并会促使大颗粒MNPs进一步解离. 经济性核算显示, 本方法每样检测

表 1　MNPs检测法的步骤及对应实验成本

Table 1　Procedures and associated costs of the MNPs detection method

操作步骤	时间成本	价格成本
>50 μm的MNPs前处理	>94.56 s ± 2.19 s/样的处理时间 + 24 h烘干	折算为0.80元/样
<50 μm的MNPs的前处理	>45.33 s ± 2.60 s/样的处理时间	折算为0.80元/样
MNPs染色	30 min	折算为0.020元/样
>50 μm的MNPs的镜检	>219.78 s ± 8.64 s/样的处理时间	列入人员、设备维护及其他成本
<50 μm的MNPs的流式细胞术分析	>62.66 s ± 5.79 s/样的处理时间	列入人员、设备维护及其他成本
人员、设备维护及其他成本	30 min的相关耗材、试剂准备及预处理	折算为9.12元/样

时间约为7~8 min, 成本为10.74元/样, 具备每月千样以上的检测能力, 显著低于传统方法的成本范围. 因此, 本研究构建的MNPs检测法可广泛应用于饮料中MNPs的快速检测与生产质量控制.

补充材料

本文的补充材料见chemcn.scichina.com. 补充材料为作者提供的原始数据, 作者对其学术质量和内容负责.

参考文献

1 Li Y, Tao L, Wang Q, Wang F, Li G, Song M. *Environ Health*, 2023, 1: 249–257
2 Liu P, Sun Q, Liu L, Lei Y, Li C, Liu Z. *Sci Sin Chim*, 2021, 51: 1206–1216 (in Chinese) [刘芃岩, 孙启智, 刘璐, 雷源, 李畅孝, 刘章华. 中国科学: 化学, 2021, 51: 1206–1216]
3 Woo JH, Seo HJ, Lee JY, Lee I, Jeon K, Kim B, Lee K. *Part Fibre Toxicol*, 2023, 20: 2
4 Okamura T, Hamaguchi M, Hasegawa Y, Hashimoto Y, Majima S, Senmaru T, Ushigome E, Nakanishi N, Asano M, Yamazaki M, Sasano R, Nakanishi Y, Seno H, Takano H, Fukui M. *Environ Health Perspect*, 2023, 131: 27006
5 Fang Q, Wang C, Xiong Y. *Chem-Biol Interact*, 2024, 396: 111043
6 Nihart AJ, Garcia MA, El Hayek E, Liu R, Olewine M, Kingston JD, Castillo EF, Gullapalli RR, Howard T, Bleske B, Scott J, Gonzalez-Estrella J, Gross JM, Spilde M, Adolphi NL, Gallego DF, Jarrell HS, Dvorscak G, Zuluaga-Ruiz ME, West AB, Campen MJ. *Nat Med*, 2025, 31: 1114–1119
7 Roslan NS, Lee YY, Ibrahim YS, Tuan Anuar S, Yusof KMKK, Lai LA, Brentnall T. *J Glob Health*, 2024, 14: 04179
8 Chartres N, Cooper CB, Bland G, Pelch KE, Gandhi SA, BakenRa A, Woodruff TJ. *Environ Sci Technol*, 2024, 58: 22843–22864
9 Álvarez-Fernández C, Matikainen E, McGuigan KG, Andrade JM, Marugán J. *J Hazard Mater*, 2024, 465: 133179
10 Lu K, Que Y, Wang L, Wang Y, Qiu J, Jia Y, Ding C, Wang D, Cheng W, Zhang Y. *Front Toxicol*, 2025, 7: 1649282
11 Qian N, Gao X, Lang X, Deng H, Bratu TM, Chen Q, Stapleton P, Yan B, Min W. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2024, 121: e2300582121
12 Huang Z, Hu B, Wang H. *Environ Chem Lett*, 2023, 21: 383–401
13 Liu Y, Lüttjohann S, Vianello A, Lorenz C, Liu F, Vollertsen J. *Mar Pollut Bull*, 2024, 198: 115795
14 Tian J, Liang L, Li Q, Li N, Zhu X, Zhang L. *J Hazard Mater*, 2025, 482: 136637
15 Brits M, van Velzen MJM, Sefiloglu FÖ, Scibetta L, Groenewoud Q, Garcia-Vallejo JJ, Vethaak AD, Brandsma SH, Lamoree MH. *Micropl Nanopl*, 2024, 4: 12
16 Ainé L, Jacquin J, Breysse C, Colin C, Andanson JM, Delor-Jestin F. *MethodsX*, 2025, 14: 103200
17 Li J, Huang F, Zhang G, Zhang Z, Zhang X. *Front Chem*, 2023, 11: 1201734
18 Chen Y, Xu H, Luo Y, Ding Y, Huang J, Wu H, Han J, Du L, Kang A, Jia M, Xiong W, Yang Z. *Water Res*, 2023, 242: 120243
19 Ma C, Ramachandraiah K, Jiang G. *Front Sustain Food Syst*, 2024, 8: 1491290
20 Shaw DB, Li Q, Nunes JK, Deike L, Zhang J. *Proc Natl Acad Sci U S A Nexus*, 2023, 2: 296
21 Adhikari S, Kelkar V, Kumar R, Halden RU. *Polym Int*, 2022, 71: 543–551
22 Shabib A, Maraqa MA, Mohammad AF, Awwad F. *Environ Sci Eur*, 2025, 37: 94
23 Meyers N, Kopke K, Buhhalko N, Mattsson K, Janssen CR, Everaert G, De Witte B. *Micropl Nanopl*, 2024, 4: 4
24 Bin Zahir Arju MZ, Hridi NA, Dewan L, Suhaila L, Amin MN, Rashid TU, Azad AK, Rahman S, Hossain M, Habib A. *RSC Adv*, 2025, 15: 10473–10483
25 Khanam MM, Uddin MK, Kazi JU. *Front Environ Sci*, 2025, 13: 1573579
26 Benyathiar P, Kumar P, Carpenter G, Brace J, Mishra DK. *Polymers*, 2022, 14: 2366
27 Foladori P, Torboli A, Bruni L. *Bioresour Tech Rep*, 2025, 31: 102170
28 Zhu J, Feng Y, Chai H, Liang F, Cheng Z, Wang W. *Lab Chip*, 2023, 23: 2531–2539
29 Kumari A, Yadav M, Bhateria R. *Microplastic Pollution*. Boca Raton: CRC Press, 2025
30 Du F, Cai H, Zhang Q, Chen Q, Shi H. *J Hazard Mater*, 2020, 399: 122969
31 Fowler SD, Greenspan P. *J Histochem Cytochem*, 1985, 33: 833–836

32 Bu H, Shao S, Li K, Wen G, Huang T. *China Environ Sci*, 2025 (in Chinese) [步海鑫, 邵森林, 李凯, 文刚, 黄廷林. 中国环境科学, 2025, doi: 10.19674/j.cnki.issn1000-6923.20250121.001]

33 Reddy A, Norris DF, Momeni SS, Waldo B, Ruby JD. *J Am Dent Assoc*, 2016, 147: 255–263

34 Condurso C, Merlino M, Miller A, Di Rosa AR, Accetta F, Leonardi M, Cicero N, Gervasi T. *Foods*, 2025, 14: 2148

35 Chaudhary NK, Thakur S, Budhathoki S, Baral D. *Bibechana*, 2024, 21: 321–327

36 Guo Z, Wu J, Wang J. *RSC Sustain*, 2025, 3: 2111–2133

37 Afzal Z, Basit A, Habib U, Aman M, Azim M, Cao H. *Int J Cardiol Cardiovasc Risk Prev*, 2024, 21: 200280

38 Jahedi F, Jaafarzadeh Haghighi Fard N. *Toxicol Rep*, 2025, 14: 102043

39 Hussain KA, Romanova S, Okur I, Zhang D, Kuebler J, Huang X, Wang B, Fernandez-Ballester L, Lu Y, Schubert M, Li Y. *Environ Sci Technol*, 2023, 57: 9782–9792

40 Zhou G, Wu Q, Tang P, Chen C, Cheng X, Wei XF, Ma J, Liu B. *J Hazard Mater*, 2023, 441: 129982

41 Zheng J, Zhang J, Xu J, Liu C, Xu L. *Eng Fail Anal*, 2020, 117: 104831

42 Chubarenko I. *Environ Res Commun*, 2022, 4: 012001

43 Ardian ARR, Handayani D, Marzuki A. *Eng Proc*, 2025, 84: 42

44 Koch M, Tervo M, Manso Sainz R, Lechner C, Mettin R. *Phys Fluids*, 2025, 37: 036135

45 Wang Y, Wang Y. *Heliyon*, 2024, 10: e32805

46 Singh T. *J Water Health*, 2021, 19: 488–498

Development of a low-cost and rapid detection method for micro- and nanoplastics in beverages and its application

Ying Liu[1], Yongxiang Yu[1,2], Ziwei Liu[1,2], Nan Jiang[1,2*]

[1] *Hubei Key Laboratory of Microbial Transformation and Regulation of Biogenic Elements in the Middle Reaches of the Yangtze River, School of Environmental Ecology and Biological Engineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430205, China*
[2] *State Key Laboratory of Green and Efficient Development of Phosphorus Resources, School of Environmental Ecology and Biological Engineering, Wuhan Institute of Technology, Wuhan 430205, China*
**Corresponding author (email: 19099101@wit.edu.cn)*

Abstract: To quantify the release of micro- and nanoplastics (MNPs) from beverages, this study firstly used a pretreatment procedure to fractionate MNPs into two size ranges: >50 and 0.22–50 μm. The larger fraction was analysed using fluorescence microscopy, while the smaller particles were quantified by flow cytometry. The gating strategy and fluorescence staining conditions for flow cytometric analysis were then optimised to achieve clear discrimination between the signal of MNPs and background noise. Finally, this study used standard beads of MNPs to validate that the method achieved a recovery rate of >97%, and we further confirmed that the method can be applicable within pH 3–11. Using the established method, this study systematically investigated the effects of physical and environmental factors during beverage storage and consumption. The results revealed that prolonged storage time, lower temperature, increased freeze-thaw cycles, longer vibration, and higher opening frequency all significantly enhanced MNP release and promoted further dissociation of larger particles. Economic assessment indicated that the method requires approximately 7–8 min per sample, with an analytical cost of about 10.74 RMB per sample, enabling detection of over one thousand samples per month. The developed detection method of MNPs thus offers the advantages of rapidity and low cost, and can be broadly applied to the rapid detection of MNPs in beverage products and to production quality control.

Keywords: microplastics, nanoplastics, beverage, flow cytometry, nile red

doi: 10.1360/SSC-2025-0291