

수환경 내 미세플라스틱 검출분석법 최신 동향 연구

오수림 · 이도균[†]

인천대학교 환경에너지공학과
22012 인천광역시 연구기 아카데미로 119
(2021년 2월 15일 접수, 2021년 3월 15일 수정본 접수, 2021년 3월 17일 채택)

A Review of Research Trends in Microplastic Analysis in an Aquatic System

Soorim Oh and Do Gyun Lee[†]

Department of Environmental and Energy Engineering, Incheon National University,
119 Academy-ro, Incheon, 22012, Korea

(Received 15 February 2021; Received in revised from 15 March 2021; Accepted 17 March 2021)

요 약

인간의 편의를 위해 생산된 플라스틱은 500년 이상 썩지 않고 생태계로 유입되어 육상 및 수생태계를 위협하고 있다. 2025년까지 2억 5천만 톤의 플라스틱이 바다로 유입될 것으로 예상되고, 2015년부터 미세플라스틱 관련 연구가 기하급수적으로 급증하고 있지만, 전 세계적으로 미세플라스틱 정의 및 분석 방법에 대한 표준화가 이뤄지지 않고 있다. 따라서, 본 연구에서는 미세플라스틱 분석방법 표준화를 위해 우선적으로 수환경에서의 미세플라스틱 분석방법의 최신 연구동향을 조사하여 프로세스 순으로 제시하였으며, 이에 대한 분석방향을 제시하고자 하였다. 추후 미세플라스틱 표준화를 위한 기초자료로써 활용 가능하며, 표준화 이후 더욱 효과적인 미세플라스틱 관리 정책이 마련될 것으로 기대한다.

Abstract – Human-made plastics takes more than 500 years to break down and have been introduced into the ecosystem, threatening terrestrial and aquatic organisms. By 2025, there will be more than 250 million tons of plastics in the ocean. Although studies regarding microplastics have been exponentially increasing since 2015, international standards for defining the size classification for microplastics, as well as methods for qualitative/quantitative analysis have not been concluded yet. Thus, in this study, the latest trends in analytical methodologies have been reviewed. Further, the study suggests directions for future research approaches can be taken to analyze aquatic microplastics, which could be as useful information for establishing effective microplastic management policy via standardization in microplastic analysis.

Key words: Identification, Microplastic, Sampling, Quantification

1. 서 론

플라스틱 산업은 1950년 이후 크게 발전하였고, 세계 플라스틱 생산량은 2017년 기준 3억 8,800만톤에 달하였으며[1], 2050년에는 약 330억 톤이 생산될 것으로 예상되고 있다[2]. 그러나, 1972년 플라스틱 입자가 해양에서 처음 발견된 후[3], 해양에서의 플라스틱 오염은 전 세계적으로 우려의 대상이 되었다[4]. 해양으로 유입되는 플라스틱은 특정 환경 조건(자외선 노출, 기계적 상호작용 등)

에 의해 쉽게 이동하며, 파편화되며 더 작은 미세플라스틱이 된다 [5]. 미세플라스틱은 일반적으로 5 mm 이하의 플라스틱으로 정의되며[6-8], 연구에 따라 1 mm 이하로 정의하기도 하며[9], 100 nm 미만입자의 플라스틱을 나노플라스틱으로 정의하기도 한다[10,11]. 또한, 생산 의도에 따라 1차 미세플라스틱과 2차 미세플라스틱으로 분류할 수 있다. 1차 미세플라스틱은 화장품 및 치약 등에 사용되는 미세비드(microbead)와 같이 특정 기능을 수행할 수 있도록 의도적으로 제조된 플라스틱을 말하며, 2차 미세플라스틱은 큰 물체의 마모 또는 파편화로 인해 발생하는 미세플라스틱을 말한다. 이렇게 발생한 미세플라스틱이 수환경으로 흘러가 대규모 개방형 시스템에 유입되면 제거하기가 어렵다[12]. 그러나, 2025년까지 2억 5천만 톤의 플라스틱이 전세계 해양으로 유입될 것으로 예상되며[13], 심지어 2050년까지 해양으로 유입된 플라스틱의 무게는 어류보다

[†]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: dlee31@inu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

더 많을 것으로 추정하고 있다[14]. 이렇게 유입된 미세플라스틱은 광범위한 발생원을 가지며, 잠재적인 생물학적 영향으로 인해 수생태계에서 잠재적인 위험을 초래한다[15,16].

이에 따라 수환경에서의 미세플라스틱 입자의 정확한 분석은 필수적이거나, 미세플라스틱 정의는 물론, 검출법에 대해 지역·국제적 표준화가 이루어지지 않아 미세플라스틱의 범위는 다양하며 시료 채취 깊이나 전처리 방법, 정성 정량 분석법 등 검출 방법이 다양하게 존재한다. 그러나, 현재 미세플라스틱의 위해성 및 규제를 위해서는 미세플라스틱 분석 데이터 해석 및 비교가 필요하며, 이를 위해서는 국제적으로 합의된 표준화된 분석 방법이 필요한 상황이다.

따라서, 본 연구에서는 2015년 이후 연구를 중점적으로 표면수, 해수 등 수환경에서의 미세플라스틱 검출법(e.g. 샘플링, 전처리, 분석법 등)의 최신 연구동향에 대해 조사하고, 이에 대한 발전 방향을 제시하고자 한다.

2. 미세플라스틱 검출방법

2-1. Sampling

미세플라스틱 측정을 위한 샘플링 방법은 아직까지 표준화되거나 지정된 깊이가 없으므로, 연구마다 상이한 방법과 깊이에서 연구가 진행되고 있다[17]. 그러나, 각 연구에 사용되는 샘플링 방법에 따라 미세플라스틱 측정에 큰 영향을 미치며, 특히 수집된 미세플라스틱의 크기 하한은 사용되는 mesh의 크기 및 처리 방법 등과 같은 시료 채취 방법에 의해 결정된다[18]. 따라서, 샘플링의 위치와 채취하고자 하는 미세플라스틱을 고려하여 Sampling 방법을 결정하는 것이 중요하다.

샘플링 방법은 크게 3가지로 나눌 수 있으며, Selective sampling, Volume-reduced sampling, Bulk sampling으로 분류된다[19]. Hidalgo-Ruz, V. 등[19]에 따르면, Selective sampling (i.e. grab sample)은 육안으로 보이는 플라스틱을 수면이나 침전물과 같은 환경에서 직접적으로 추출하는 샘플링으로써, 시료를 채취할 병이나 용기만 있으면 시료를 채취할 수 있다. 또한, pellet과 유사한 형태로 1 mm보다 큰 크기의 미세플라스틱이 채취되나, 명확하지 않고, 해안 쓰레기와 섞인 형태로 채취된다. Volume-reduced sampling은 실험실 분석을 위해 우선적 분리가 요구되는 미세플라스틱을 대상으로 진행되는 시료 채취방법으로 현장에서 실험 대상으로 하는 플라스틱의 필터링과 수집이 동시에 이뤄진다는 장점이 있으나, 미세플라스틱 채취 시 잠재적 손실 가능성을 배제할 수 없는 방법이기 때문에 지표수에서의 미세플라스틱보다 더 적게 평가될 수도 있다. 마지막으로, Bulk sampling은 시료 채취 현장에서 미세플라스틱을 분리하지 않고, 대량으로 시료를 채취하여 실험실에서 필터링을 통해 분리하는 것이다. 이 경우에는 100 L 이상 대량의 시료 채취가 가능하며, 이론적으로 크거나 가시성에 관계없이 모든 미세플라스틱을 채취할 수 있다. 또한, 시료 채취량을 정확하게 알 수 있으며, 일반적으로 20~80 μm , 체 또는 기공 크기 0.45~20 μm 을 통해 여과된다[20].

또한, 샘플링 방법은 net의 크기에 따라 분류할 수도 있는데, 일반적으로 bongo nets (>500 μm), manta nets (neuston net) (>300 μm), plankton nets (>200 μm and >400 μm)로 분류되며[21], 이를 zooplankton sampling 방법이라고 한다. 또한, 300 μm 이하의 입자는 펌프를 통해 bulk sample을 통해 채취할 수 있다[22]. 다음과 같은

샘플링 방법은 수평 견인방식(towing)으로, 시료 채취량을 추정하고 m^3 으로 결과값을 표시할 수 있도록 유량계를 부착하여 진행하여야 한다[23]. 가장 일반적으로 사용되는 net은 Manta net으로, Trawl net과 용어를 혼용하여 사용된다. Manta net은 플랑크톤, 곤충 및 다른 생물군의 지표수(surface water)를 채취하기 위해 개발된 대형 직사각형 프레임에 부착된 미세 mesh 그물로, 표면을 떠나지 않으며 해수를 채취하는 방식이다[24]. Manta net의 mesh 크기는 200~335 μm 범위이나, 일반적으로 330 μm 의 크기가 주로 사용된다[25-27]. 그러나, Manta net은 날씨의 영향을 받으며, net에 여과된 시료의 양만 알 수 있어 정확한 시료의 양을 알 수 없으며[24], 샘플링을 위한 선박 속도는 날씨, 해상 상태 등에 따라 영향을 받을 수 있지만 일반적으로 1~5 knots 사이를 유지한다[28]. 또한, Fischer, E. K. 등[29]은 유기 함량이 높은 경우 net의 잠재적 막힘 효과를 방지하기 위해 샘플링 시간을 60분 미만으로 권장하고 있다. 반면, Bongo net은 원통형 또는 원추형의 모양을 가지며, Manta net과 달리 날씨의 영향을 받지 않는다. Plankton net은 일반적으로 mesh 크기가 100 μm 이하로 빠르게 막힐 수 있어 낮은 속도로 샘플링이 진행되며[23], mesh의 크기가 작기 때문에 1분 이내로 샘플링이 가능하며, manta net보다 30배 더 높은 농도 값을 보인다[30].

샘플링 방법은 다양하게 존재하며, 연구에 따라 각기 다른 샘플링 방법을 이용하며(Table 1), 같은 지역이더라도 샘플링 방법에 따라 다른 농도 값을 보인다. 예를 들면, Kang, J.-H. 등[27]은 Manta net과 hand net을 이용하여 연구를 진행하였으며, net의 크기는 각각 330 μm mesh, 50 μm mesh로 샘플링을 진행한 결과, hand net으로 채취한 미세플라스틱 농도가 manta net으로 채취한 미세플라스틱 농도보다 평균적으로 2배 높은 것으로 확인하였다(Manta net을 이용한 시료 채취는 평균 선박의 속도를 1.5~2.5 knots로 하여 약 10분동안 진행하였다.) 또한, Green, D. S. 등[21]은 Manta net, Bongo net, Plankton net, Bottle grab sampling 방법을 비교한 결과, Grab sampling 보다 나머지의 샘플링 방법을 이용하는 것은 3~4배 정도 과소평가되었으나, Grab sampling에서의 미세플라스틱 조각(fragment) 및 필름(film) 유형은 Bongo net과 Plankton net (200 μm)에서의 농도보다 과소 평가되었음을 확인하였다. 이처럼 Table 1을 보면 같은 샘플링 같은 샘플링 방법을 사용하여 연구를 진행하였음에도 불구하고, 연구에 따라 mesh의 크기, 샘플링 깊이 등이 다르다.

이처럼 연구에 따라, 샘플링 방법에 따라 각각의 샘플링 깊이와 net size 등이 다른 것을 확인하였으며, 이에 따라 결과가 다른 것은 당연한 결과이다. 따라서, 이를 표준화할 수 있는 방법을 확립하는 것은 필수적이다.

2-2. Pre-treatment

미세플라스틱 분석을 위해서는 환경시료 전처리가 필요하며, 연구 대상 크기의 미세플라스틱 확보를 위해 미세플라스틱 분리가 필수적이다. 시료 채취 환경에 따라 전처리 조건을 다르게 설정하여 연구를 진행한다. 일반적으로 미세플라스틱 분석을 위한 전처리는 유기물 제거와 미세플라스틱 분리로 나뉜다.

환경시료 속 유기물은 플라스틱과 혼동되어 미세플라스틱 측정 시 과대 평가되어 플라스틱 입자의 농도 값이 높게 측정될 가능성이 제기된다. 따라서, 환경시료에 다량의 유기물이 존재할 경우 정확한 분석을 위해 유기물 제거 과정이 필요하며, 특히 육안으로 미세플라스틱 정량이 이뤄질 때는 이 과정이 필수적인 것이다. 유기

Table 1. Water sampling for microplastic analysis

Methods	Mesh size (μm)	Location	Depth	Ref.
Manta (trawl)	330	Nakdong River, Korea	N/A	[27]
	333	Arctic Sea	10-16 cm	[31]
	330	Paris	0-0.3 m	[30]
	335	Bay of Brest, France	10 cm	[26]
	333	San Francisco Bay	N/A	[32]
	330-500	Arctic Sea	15 cm	[33]
	333	Mediterranean Sea	10 cm	[34]
	330	Bohai Sea	0.45 m	[25]
	300	Plymouth Harbour, England	15 cm	[21]
	333	Sea of Marmara, Turkey	N/A	[35]
Hand	50	Northwest Pacific	0.45 m	[36]
		Bering Sea Chukchi Sea		
Bongo	> 500	Nakdong River, Korea	N/A	[27]
	500	Arctic Sea	6 m	[31]
Plankton	500	Stanley Harbour, England	1 m	[21]
	80	Paris	0-0.35 m	[30]
	153	Deep Bay, Hongkong	N/A	[37]
Neuston	200 and 400	Strangford Lough, England	2 m	[21]
	200	Mediterranean Sea	N/A	[38]
	200	Black Sea	20 cm	[39]
Bulk	350	Arctic Sea	N/A	[40]
	-	Nakdong River, Korea	less than 20 cm	[27]
	-	South Funen Archipelage, Denmark	0.5 m 2.0 m 5.0 m	[41]
-	Zhangjiang River	-	[42]	

물 제거에 사용되는 방법은 산(Acid)처리, 알칼리(Alkali)처리, 산화처리, 효소처리 등으로 다양하나, 수환경에서 미세플라스틱을 분리할 때는 산화처리 또는 효소처리 방법을 사용하며, 수처리에서는 분해능력이 큰 알칼리 처리는 거의 사용되지 않는다. 알칼리 처리는 토양 및 유기체(어류, 무척추 동물 등)에서 미세플라스틱 분리할 때 사용되는 것으로 나타났다[43,44]. 따라서, 본 연구에서는 산화 처리와 효소 처리를 중점적으로 기술하였다.

우선 다양한 산을 이용하여 유기물을 제거하는 방법은 일반적으로 특정 기간 동안 실온에서 무기산(HNO_3 , HCl 등)이 사용된다[45]. 산처리는 비교적 반응시간이 24시간 이내로 빠르지만, 일부 입자가 변형될 수 있다[46].

반면, 가장 일반적으로 사용되는 전처리 방법은 산화 분해법으로, 과산화수소(H_2O_2 , 30-35%)를 사용하며, 폴리머 분해 없이 NaOH 와 HCl 보다 유기물을 더 효율적으로 제거할 수 있다[47,48]. 산화 분해법은 연구에 따라 노출 시간이나 사용하는 용액의 농도 등이 다르다. 시료를 2 mm sieve 여과시킨 후 2주 동안 34.5% H_2O_2 로 분해하여 유기물을 제거하거나[20], 50% H_2O_2 [49] 또는 30% H_2O_2 를 시료에 주입하여 섞은 후 3주간 차광 상태로 상온에 방치하여 유기물을 분해한다[50]. 특히 형광염색을 하는 경우에는 1차적으로 H_2O_2 로 유기물을 제거한 후, NaClO (6~14%)을 첨가하여 잔류 유기물을 제거하기도 한다[51].

또한, 효소 처리는 다른 방법들보다 위험요소가 적고, 미세플라스틱에 영향을 미칠(e.g. 모양 변형) 가능성이 낮다[52]. Löder, M. G. 등[53]는 유기물 제거를 위해 Basic Enzymatic Purification

Protocol (BEPP)를 개발하였다. BEPP 방법은 5% (w/w) sodium dodecyl sulfate를 사용한 후 효소(protease, cellulase, chitinase)를 순차적으로 사용하는 방식이다. 단, 효소 처리 사이에 두 번의 H_2O_2 처리를 기반으로 최대 13일의 노출 시간으로 진행하였으며, 최대 98.3%의 효율을 보였다. Trypsin, collagenase, Papain 효소를 이용하여 유기물 제거 효율을 평가한 결과 72~88%의 효율을 보였으며, 최대 효율을 나타낸 효소는 Collagenase이다[54]. 그러나, 아직까지 효소 처리는 소규모로 사용되고 있으며, 일부 연구에서는 효소 처리 후 H_2O_2 처리를 필요로 하고 있다[23]. 이처럼 여러 단계의 전처리를 사용하여 유기물을 제거하는 연구도 있다.

국립해양대기청(NOAA, National Oceanic and Atmospheric Administration)은 환경시료에 대해 유리 비커를 75 °C에서 가열된 Fe(II) 용액(0.05 M)(황산염(Fenton 시약))과 H_2O_2 와 함께 사용할 것을 권장하고 있다[8].

위와 같이 다양한 방법들로 유기물이 제거된 시료는 연구 대상 미세플라스틱 크기에 따라 여과되거나 여과 과정 없이 분석한다. 특히, 여과 과정은 필터의 pore size에 따라 미세플라스틱 입자의 검출 한계가 결정되므로 표준화가 필요한 과정 중 하나이다[61]. 일반적으로 표면수 시료를 채취할 때는 유기물이 거의 존재하지 않기 때문에 유기물 제거를 위한 전처리를 진행하지 않고, 여과하거나 여과 후 건조하여 연구가 진행된다[20,50,62,63]. 물론, 유기물을 제거한 시료도 여과 과정은 진행된다.

연구에 따라 다르지만, 각각 >5 mm, 1~5 mm, <1 mm로 분류되며 <1 mm의 미세플라스틱은 다시 동물플랑크톤 영역인 300-1 μm ,

Table 2. Organic matter removal method for microplastic analysis in water sample

Method	Condition	Organic matter degradation	Ref.
Acid	HNO ₃ (35%), 60 °C 1 h	100%	[55]
	HCl	N/A	[47]
Alkali	NaClO (6-14%) (after Oxidative treatment)	N/A	[51]
	KOH (10%) 24 h	N/A	[56]
	NaClO (9-14%), Room temperature 24 h	N/A	[57], [41]
Oxidative	H ₂ O ₂ (32%)	N/A	[35]
	H ₂ O ₂ (20%) 50 °C 4 h	N/A	[58]
	H ₂ O ₂ (50%) 7 days	N/A	[41]
	H ₂ O ₂ (20%), Room temperature 2 weeks	N/A	[27]
Enzymatic	Protease, cellulase, chitinase	N/A	[53]
	Collagenase, 38~42 °C 30 min	88%	
	Papain, 38~42 °C 30 min	76%	[54]
	Tripsin, 38~42 °C 30 min	N/A	[55]
	Corolase 7086, 60 °C 1 h	N/A	[59]
Multi	H ₂ O ₂ (30%) + 0.05 M FeSO ₄	N/A	[42], [60]
	Pepsin (0.5%) and HCl (0.063 M), 35 °C 2 h	72%	[54]

식물플랑크톤 영역인 20~330 μm 로 분류하여 크기분류에 따른 체 (sieve)와 여과지를 이용하여 여과한다[19]. 5 mm, 4 mm, 2.8 mm, 2 mm, 1 mm, 500 μm , 300 μm 의 pore size를 갖는 체를 이용하여 연속적으로 여과시킨 후 최종적으로 유리 섬유 필터(GF filter)를 이용하여 여과를 진행하거나[50], 크기별 분석을 위해 100 μm , 300 μm , 1 mm, 5 mm의 공극을 가진 체에 걸러 분류한다[58]. 또한, 유리 섬유 필터를 이용하여 여과한 후 필터를 60 °C에서 건조시킨 후 분석을 진행한다[20]. 미리 연소된 유리 섬유 필터를 통해 여과한 후 필터를 -20 °C에서 건조시킨다[63]. 이처럼, 미세플라스틱 분리를 위한 여과 과정은 연구마다 차이가 발생하며, 이 과정에서 발생하는 검출 한계를 줄일 필요가 있다.

2-3. Qualitative/Quantitative analysis

미세플라스틱의 식별 및 정량화는 대부분 육안, 현미경을 통해 분석되며, 계수된 미세플라스틱은 Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), Raman spectroscopy 등 분광기법을 이용하여 정성 분석이 이루어지는 것이 일반적이다.

육안 식별은 비교적 입자 크기가 큰 미세플라스틱(5~25 mm)을 분류 및 식별하며, 간단한 교육을 받은 전문가와 비전문가 모두에게 쉬우며 간단한 방법이다[64]. 그러나, 육안 식별 방법은 분석 가능한 크기 범위가 좁기 때문에 색상과 모양이 유사한 무기 및 유기 입자가 많은 경우 미세플라스틱을 과소평가(underestimation)이 발생하며 특히 직경이 1 mm 미만인 입자의 경우 더욱 구별하기 어렵다[65]. 반면, 현미경을 사용하여 확대된 이미지는 플라스틱과 유사한 입자를 식별하는 데 필수적인 입자의 표면과 구조 정보를 제공한다[66]. 현미경 분석방법은 수백마이크로미터($\sim\mu\text{m}$) 범위에서 널리 사용되며[27,32], 입자 크기가 50 μm 미만인 입자를 제외하고 비교적 쉽고 빠르게 미세플라스틱 식별이 가능하나, 1 mm 미만의 입자에 대해 식별 한계가 발생하며, 합성 섬유 및 천연 섬유를 현미경만으로 구별하기에 어려움이 있다[67]. 육안식별, 현미경 식별과 같은 시각적 분류는 오인의 가능성이 존재하기 때문에 입자의 특성을 확인하기 위한 상호보완적 분석이 필요하다[26]. 이를 위해 FTIR 및 Raman 분광법을 이용하는 것이 일반적이다. FTIR 분광법은 식

별 가능한 플라스틱 입자의 특정 화학 결합 및 작용기에 대한 정보를 제공한다[65]. 2015년 이후 연구에서는 대부분 FTIR 분광법을 통한 분석이 진행되었으나[68], FTIR 분광법은 비용이 많이 들고, 미세플라스틱과 같은 입자를 하나씩 식별하는 데에 시간이 많이 소요되며, 분석 가능한 입자 크기가 작다[67]. 또한, Attenuated total reflectance (ATR) 기반 FTIR에는 반사율 및 투과율 모드가 있으며, 특히 반사율 모드의 스펙트럼은 불규칙한 모양의 미세플라스틱을 분석할 때 발생하는 굴절 오류에 대한 스펙트럼 왜곡의 가능성을 보여주나, 투과율 모드에서는 일부 두꺼운 미세플라스틱에 대하여 스펙트럼 추출의 오류가 발생할 수 있다[69]. 그러나, ATR FTIR은 micro FTIR보다 불규칙한 모양의 미세플라스틱 스펙트럼을 얻는데 이점이 있지만, 500 μm 이상의 입자 분석만 적합하였다[70]. 이를 보완하기 위해 Focal plane array (FPA) 기반 FTIR imaging 기법을 적용한 연구에서는 기존의 FTIR 분광법보다 작은 크기인 20 μm 이하의 플라스틱 입자를 분석하였다[71].

Raman 분광법은 흡수 스펙트럼(i.e. 쌍극자 변화에 의한 전자기파의 흡수를 측정)을 얻는 FTIR과 비교하여 가장 큰 차이는 유도 쌍극자(Induced dipole moment)에 의한 극성 변화로 인한 산란을 측정하여 산란 스펙트럼을 얻는다는 것이다. Raman 분광법은 FTIR과 비교하여 더 작은 입자인 1 μm 까지 분석 가능하며, 더 넓은 스펙트럼 범위, 비극성 작용기에 대한 더 높은 감도 등을 보여주며[72], 비극성 플라스틱 작용기에 대한 반응이 더 우수하다[68]. 특히 물 스펙트럼이 약하게 표시되고 다른 진동 영역을 방해하지 않기 때문에 습식 시료에 대해서도 사용할 수 있다[73].

비파괴분석법인 FTIR 및 Raman 분광법 이외의 파괴분석법인 열 분석방법은 입자의 열 안정성에 따라 물리적 및 화학적 특성 변화를 측정하여 미세플라스틱을 식별하는 방법이다[74]. Differential scanning calorimetry (DSC)는 미지의 고분자 재료의 열적 특성을 연구하는 것에 유용한 방법[75]으로, 비교적 간단하고 빠르게 플라스틱 유형 식별이 가능하지만 미세플라스틱 식별에 한계점이 존재한다[66]. 또한, 열분해 가스 크로마토그래피(Pyro-GC/MS, Pyrolysis-Gas chromatography/Mass spectrometry)는 불활성 대기 또는 진공 하에서 열분해를 통해 고분자를 저분자의 일부 또는 작용기로 분해

하는 기술로[28], 미세플라스틱의 유형과 유기 첨가제를 동시에 분석 가능하다. 한번에 하나의 입자만 튜브로 통과 할 수 있기 때문에 시간이 많이 소요되며, 튜브의 크기(<1 mm)에 의해 제한된다[17]. Dümichen, E. 등[74]은 Pyr-GC/MS와 TDS-GC/MS를 비교 분석한 결과, TDS-GC/MS 분석이 더 많은 시료를 처리하였고, 더 복잡한 matrix를 분석하였으며, Pyr-GC/MS는 효소 및 산화 분해 후 성공적으로 적용되었다[76]. 그러나, 위와 같은 열 분석 방법은 FTIR 분광법에 비해 기기 실행 및 데이터 처리에 많은 시간과 노력이 소요되며, 미숙련자가 다루기 어려움이 있다[77].

또한 최근에는 미세플라스틱 분석을 위해 새로운 방법들이 제시되고 있으며, 정성 및 정량 분석 외에도 미세플라스틱 풍화 메커니즘과 이뤄지고 있다. 현재 미세플라스틱 분석을 위한 가장 유망한 접근 방식은 IR 및 Raman 분광법이나, 분광법은 플라스틱의 표면, 형태 등에 대한 이미지를 제공하지 않기 때문에 풍화 메커니즘을 입증하기에는 어려움이 존재하여 Scanning electron microscope (SEM)을 통해 이에 대한 문제점을 해결하고자 연구가 진행되고 있다[78]. SEM은 시료 표면에 고강도 전자빔을 발사하고 지그재그 타입의 패턴(raster scan)으로 스캔하여 시료 표면 이미지를 생성하는 분석방법으로[28], 플라스틱과 유사한 입자를 선명한 이미지로 제공한다[66]. 최근 SEM은 Energy dispersive X-ray (EDX 또는 EDS)와 결합된 기기를 많이 이용하며, EDS를 통한 추가 분석은 동일한 입자의 원소 구성을 제공하며[79], 해당 시료의 원자 구성에 대한 정량적 정보를 제공한다[78]. 그러나, SEM-EDS 또한 고가의 기기 장비이며, 시료 준비 및 검사에 상당한 시간이 소요되고, 처리할 수 있는 시료 수가 제한되며[66], 일부 비전도성 시료의 경우 시료 표면의 전하를 유발하였으며, 이로 인해 분석 결과의 오류가 발생하였다[78]. 한편, 최근 미세플라스틱 분석 기기가 자동화되고 있으며, 미세플라스틱 측정에 특화된 기기(e.g. 8700 LDIR, Mophorogi 4 등)가 개발되고 있다. 특히, Laser Direct Infrared Infrared (LDIR)은 이미징 및 스펙트럼 분석에 대한 자동화된 접근 방식을 제공하여 분석시간을 단축시킬 수 있으며, 소프트웨어 활용을 통해 10 µm 이하의 입자를 식별하고 시료의 화학적 특성, 크기 및 형태 등의 정보를 제공하며, 정량화가 가능하다[80].

반면, 미세플라스틱의 정량 분석은 정성분석보다는 일반적으로 육안 분석이나 소프트웨어 적용을 통해 연구가 진행되고 있다. 그러나, 현미경을 이용하여 육안 정량 분석을 진행하는 것은 오인 식별이 일어날 수 있으며, 연구 결과 시각적 분류가 미세플라스틱의 농도를 잘못 추정할 수 있음을 나타냈다[26]. 실제로, Lee, J. 등[49]은 여과지에 여과된 미세플라스틱의 계수 면적을 평가하기 위해 전체 면적을 대상으로 계수한 결과와 4분면으로 나눠 1개 분면만을 측정하여 전체 면적으로 환산하여 비교한 결과, 많은 시간이 소요되어 효율성이 떨어지며 4분면 측정법은 각 분면마다 미세플라스틱 산정결과, 상대표준편차가 38.5~200%로 분석 결과값의 편차가 매우 큰 것으로 나타났다. 또한, 현미경과 FTIR 분석 결과를 비교해본 결과, 현미경 분석은 50 µm 이하의 입자를 제외하고 비교적 쉽게 식별할 수 있었으나, FTIR에 의한 분석 결과값이 1.6배 더 높은 것으로 나타났다[67]. 특히, Lenz, R. 등[68]에서 미세플라스틱 정량 분석을 육안 분석만으로 진행하는 방식은 위양성(e.g. paint particle)과 위음성(e.g. darkly colored MPs mistaken for naturally occurring particle) 모두로 이어진다고 강조하였다.

이를 해결하기 위해 정량 분석 시 플라스틱이 다른 유기물 또는

무기물에 의해 방해받지 않고 눈에 잘 띄게 하기 위해서 형광 염색법을 이용한다. 예를 들면, Maes, T. 등[52]은 5가지 염색염료(Oile red EGN, Eoxin B, Rose Bengal, Hostasol Yellow 3G, Nile Red (NR))를 플라스틱에 흡착하는 능력에 대해 연구한 결과 NR가 흡착 및 형광 강도 측면에서 가장 효과적인 것으로 나타났다. 8가지 염색염료(Acridine Orange, Basic Blue 24, Crystal Violet, Lactophenol Blue, Neutral Red, Nile Red, Safranin-T, Trypan Blue)에 대한 연구 결과 또한, 플라스틱 식별에 가장 최적인 염료는 Nile Red인 것으로 나타났다[81]. Lv, L. 등[82]은 3개의 염료(NR, FITC, Safranin-T)를 사용하여 다양한 플라스틱 입자(PS, PE, PVC, PET)를 온도와 염색 시간에 조건을 두고 시험을 진행한 결과, 50 °C, 10분 동안 NR로 염색하는 것이 효과적이었다. 이처럼, 다양한 염색 염료의 흡착력을 확인한 결과 NR가 플라스틱 흡착에 가장 효과적인 것을 확인하였다. 현재 미세플라스틱 식별 향상을 위해 사용되는 가장 효과적인 염료는 NR이나, NR 염색에도 플라스틱 식별을 위한 몇 가지 문제점은 존재한다. NR 염색을 할 때는 유기물 제거, 즉 전처리가 중요하며, 몇몇 제거되지 않는 잔여 유기물 때문에 현미경 및 분광법 등으로 미세플라스틱을 분석할 때 어려움이 있으며, 이러한 이유로 환경 시료에서 미세플라스틱을 정량 분석하기 위해 NR 염색만 사용하여 분석하는 것은 권장되지 않는다[83]. 또한, Stanton, T. 등[84]은 NR 염료의 단일 염색은 100%과대평가된다고 판단하였고, NR의 한계점으로 어두운 색의 플라스틱 염색과 비플라스틱 입자의 염색으로 인한 형광발광 등을 평가하였으며, 이를 보완하기 위해 Co-staining 방법을 제안하였다. Co-staining 방법은 NR과 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)를 사용하여 정량화하는 방법으로, NR에 의해 염색된 유기물을 식별하기 위해 DAPI를 사용하여 NR염색으로 인한 과대평가 정도를 측정할 수 있다[84]. 그리고 일부 소프트웨어를 이용하여 미세플라스틱을 정량 분석하는 방법도 있다. 예를 들면, Image J를 기반으로 Microplastics Visual Analysis Tool (MP-VAT)을 개발하여 NR을 염색한 미세플라스틱을 자동적으로 계산한다[81].

정량 분석은 분석 방법, 분석 장비 등에 의한 차이가 존재하지만, 이외에 우선적으로 분석 시 단위를 하나의 단위로 통일시켜줄 필요가 있다. 각 연구마다 미세플라스틱 농도를 나타내는 단위가 조금씩 차이가 있기 때문에 각 연구, 지역의 농도 값을 비교하는 데 어려움이 있다. Trawling sampling에 의해 채취된 지표수에서 미세플라스틱을 특성화하는 데 가장 일반적으로 사용되는 단위는 items/particles/m² 이나 items/particles/m³ 이며, column 또는 bulk sampling에 의해 채취된 지표수의 농도는 일반적으로 items/particles/m³으로 표현된다[17]. 즉, 정확한 채취량을 아는 경우 부피당 미세플라스틱 개수로 표현되지만, 정확한 채취량을 알지 못하고 net에 의해 여과 과정 거쳐 이동되면서 채취되는 경우 면적당 미세플라스틱 개수로 표현된다. 이처럼 연구마다 다른 샘플링 방법으로 표현되는 단위도 다르기에 미세플라스틱 측정 프로토콜의 국제적 표준화가 필요한 상황이다.

3. 결 론

미세플라스틱 관련 연구는 Carpenter, E. and Smith Jr, K. [3]가 Sargasso 해에서 플라스틱 조각이 3500 particles/km²이 검출된다고 발표한 후 지속되고 있으며, Fig. 1 처럼 2014년 이후 급증하고 있는 추세이다. 최근 5년간 미세플라스틱에 대한 관심은 기하급수적으로

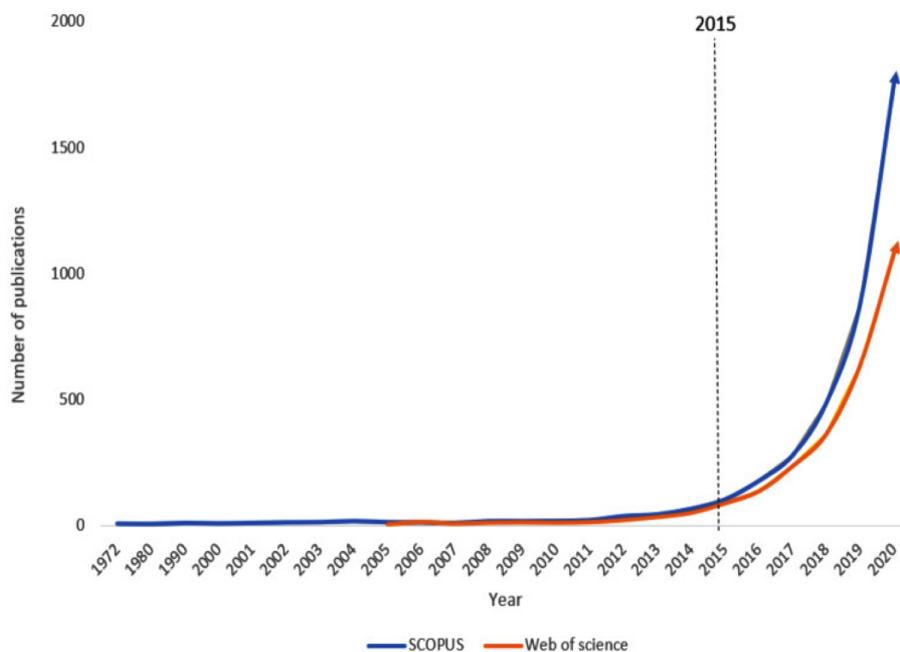


Fig. 1. Trend in publication 1972-2020 from SCOPUS and Web of science using keyword “microplastic”.

증가하고 있으며, 이에 대해 각국에서 다양한 환경(물, 토양, 유기체 등)에서 연구가 진행되고 있다.

대부분 해양 환경에서의 연구이며[85], 미세플라스틱의 거동, 그로 인한 검출량은 주변 환경 요인(e.g. 계절, 오염정도, 인구수 등)에 의해 차이가 발생하기도 한다. 예를 들면, Kang, J.-H. 등[27]는 장마 전 5월과 장마 후 7월까지의 미세플라스틱 검출량을 비교해본 결과, 장마 후의 섬유와 스티로폼 등의 검출량이 증가하는 것을 확인하였다. 특히, Kuo, F.-J. and Huang, H.-W. [86]는 봄과 가을의

미세플라스틱 검출량을 비교한 결과, 가을에 미세플라스틱 검출량이 높은 것을 확인하였으며, 조류(밀물과 썰물)에 의한 영향도 입증하였다. 이처럼, 수많은 환경 요인에 의해 차이가 발생하긴 하지만, 샘플링 과정이나 연구 방법에서 발생할 수 있는 차이에 의해 더 크게 변동될 수 있다. Table 3는 기존 연구의 미세플라스틱 검출량을 요약한 것으로, 검출 지역에 따라 Shape, type, size가 다르며, 검출량에도 큰 차이를 보인다. 특히, 검출량은 검출 지역에 따라 차이가 있지만 오염 정도를 반드시 반영하는 것이 아니나, 샘플링의 도구와

Table 3. A comparison of the abundance of microplastic according to sampling location

Location	Abundance (Concentration) (particles/m ³)	Shape	Type	Size	Ref.
Nakdong River, Korea	0.62~57 (Manta) (May)	Fiber, film, hard plastic, pellet, foam	PE, PP, EPS, Polyester (PL), Alkyd	<2 mm and 2~25 mm	[27]
	0.64~860 (Manta) (July)				
Geoje Island, Korea	260~1410 (Hand) (May)	"	N/A	<50 μm and 50~1000 μm	[67]
	210~15,560 (Hand) (July)				
Arctic Sea	127 ± 111 particles/L (microscope)	Fragment, fiber, sheet, EPS	N/A	<50 μm and 50~1000 μm	[67]
	206 ± 117 particles/L (FTIR)				
Arctic Sea	0~1.31 (surface sample)	Fiber, fragment, film	PL, PE, PVC polyamide, acrylic	N/A	[31]
	0~11.5 (sub-surface sample)				
Mediterranean Sea	243,853 particles/km ²	Fragment, film, foam, fishing thread, pellet/granule	N/A	0.2~100 mm	[38]
San Francisco Bay	700,000 ± 600,000 particles/km ²	Fragment, fiber, pellet, film, foam	N/A	0.355~4.75 mm and ≥ 4.75 mm	[32]
Black Sea	600~1200	Fiber, fragment, film	N/A	N/A	[39]
Antarctic (Southern Ocean)	100,000 pieces/km ²	Fiber, fragment	EPS, PS, PP, PE	0.1~30 mm	[40]
South Funen Archipelago, Denmark	0.07 ± 0.02	Fragment, fiber	N/A	0.3~5 mm	[41]
England	78.3 (Manta)	Film, fragment, fiber	PE, PP, PVC, nylon, polyethylene terephthalate, arylc, neoprene, polyvinyl acetate	N/A	[21]
	11.9 (Bongo)				
	29.7 (Plankton, 400 μm)				
	14.1 (Plankton, 200 μm)				
Zhangjiang River, China	50~725	Fragment, fiber, pellet, line, film, foam	PP, PE, PS, PES, PET	0.3-5 mm	[42]

pore size와 관련이 있다[17]. Green, D. S. 등[21]은 샘플링 방법에 따라 검출량의 차이를 보인 것을 확인하였고, Manta net 샘플링과 Bongo net 샘플링의 검출량 차이는 약 6배 이상의 차이를 보였다. 또한, Manta net 샘플링과 Hand 샘플링 방법을 비교한 결과, Hand 샘플링에 의한 검출량(<2 mm)은 Manta net 샘플링에 의한 것보다 2배 더 높았으며, 이는 Manta net 샘플링에서 50~330 μm 의 미세플라스틱을 놓쳤다는 것을 의미하며[27], 실제로 미세플라스틱 크기에 따른 검출량을 비교해보면, 50 μm 미만의 미세플라스틱이 가장 높다[67].

이와 같이, 미세플라스틱 측정방법은 아직까지 국제적으로 표준화되지 않아 각국의 연구 결과를 비교하기 어려운 상황에 놓여있다. 따라서, 미세플라스틱 분석방법의 표준화를 위한 논의가 요구되고 있다. 본 연구는 다양한 환경 중 미세플라스틱 문제가 가장 크게 대두되고 있는 수환경에서의 미세플라스틱 측정방법과 검출현황에 대해 검토하였고, 장래의 미세플라스틱 분석방법 표준화를 위한 발전방향을 제시하고자 하였다.

그 결과, 현재 가장 많이 사용되고 있는 미세플라스틱 분석방법은 Manta trawling 330 μm 의 net을 통해 시료를 채취하고, 전처리 필요 시 과산화수소(H_2O_2 , 30%)를 사용하여 FTIR 또는 Raman 분광법을 이용하는 방법이다. 그러나, 이 방법은 샘플링에서부터 오류가 존재한다. 330 μm net을 이용하기 때문에 크기 비교에서 가장 많은 부분을 차지하고 있는 330 μm 이하의 미세플라스틱은 채취 불가하며, 표준화된 분석 방법이 마련되어 있지 않기 때문에 국제적 비교 분석은 물론, 현재 우리나라에서의 미세플라스틱 비교 분석에도 어려움이 존재한다. 또한 현재 미세플라스틱 측정 방법 관련 연구는 정성분석에 초점을 맞춰 진행되고 있으며, 정량 분석은 비교적 연구의 중심에서 벗어나 있으며(미흡하다), 정량 분석 결과는 items/particles/ m^2 , items/particles/ m^3 , items/particles/ m^3 의 형태로 사용되고 있다. 추후 미세플라스틱의 잠재적 독성을 평가하기 위해서는 정량분석이 필수적으로 요구되며, 단일화된 단위 표현법 정립도 필수적이다. 따라서, 본 연구에서는 채취 시 미세플라스틱 손실 방지를 위해 net을 이용한 샘플링 방법보다는 Bulk 샘플링 방법을 권장하며, 전처리 사용 시 미세플라스틱 입자가 변형되지 않는 효율적인 새로운 전처리 방법을 찾는 것이 중요할 것으로 생각된다. 또한, 정성 분석 보다는 정량 분석에 초점을 맞춘 다양한 연구가 진행되어야 하며, 가장 중요한 것은 미세플라스틱 측정을 위한 국제적으로 표준화된 미세플라스틱 측정방법을 정립하는 것이다. 그러므로, 본 연구는 추후 미세플라스틱 측정 방법 표준화를 위해 기초 자료로써 활용 가능하고, 이를 통해 측정방법 표준화 이후 더욱 효과적인 미세플라스틱 관리 정책이 마련될 것으로 사료된다.

감 사

본 논문은 인천녹색환경지원센터의 2019~2020년도 환경현안기술개발과제로서, 연구비를 전액 지원받아 수행하였습니다.

References

1. Europe, P., "An Analysis of European Plastics Production, Demand and Waste Data," *Plastics—the facts*, (2015).
2. Rochman, C. M., Browne, M. A., Halpern, B. S., Hentschel, B.

- T., Hoh, E., Karapanagioti, H. K., Rios-Mendoza, L. M., Takada, H., Teh, S. and Thompson, R. C., "Classify Plastic Waste as Hazardous," *Nature*, **494**(7436), 169-171(2013).
3. Carpenter, E. and Smith Jr, K., "Plastics on the Sargasso Sea Surface," *Science*, **175**, 1240-1241(1972).
4. Thompson, R. C., Olsen, Y., Mitchell, R. P., Davis, A., Rowland, S. J., John, A. W., McGonigle, D. and Russell, A. E., "Lost at sea: Where is all the Plastic?," *Science(Washington)*, **304**(5672), 838 (2004).
5. Chae, Y. and An, Y.-J., "Effects of Micro-and Nanoplastics on Aquatic Ecosystems: Current Research Trends and Perspectives," *Marine pollution bulletin*, **124**(2), 624-632(2017).
6. Cole, M., Lindeque, P., Halsband, C. and Galloway, T. S., "Microplastics as Contaminants in the Marine Environment: A Review," *Marine pollution bulletin*, **62**(12), 2588-2597(2011).
7. Betts, K., "Why Small Plastic Particles May Pose a Big Problem in the Oceans," **42**(24), 8995-8995(2008).
8. Masura, J., Baker, J. E., Foster, G. D., Arthur, C. and Herring, C., "Laboratory Methods for the Analysis of Microplastics in the Marine Environment: Recommendations for Quantifying Synthetic Particles in Waters and Sediments," (2015).
9. Browne, M. A., Galloway, T. S. and Thompson, R. C., "Spatial Patterns of Plastic Debris Along Estuarine Shorelines," *Environmental Science & Technology*, **44**(9), 3404-3409(2010).
10. Bergmann, M., Gutow, L. and Klages, M., "Marine Anthropogenic Litter," *Springer Nature*(2015).
11. Klaine, S. J., Koelmans, A. A., Horne, N., Carley, S., Handy, R. D., Kapustka, L., Nowack, B. and von der Kammer, F., "Paradigms to Assess the Environmental Impact of Manufactured Nanomaterials," *Environmental Toxicology and Chemistry*, **31**(1), 3-14(2012).
12. Shim, W. J. and Thomposon, R. C., "Microplastics in the Ocean," *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, **69**(3), 265-268(2015).
13. Wright, S. L. and Kelly, F. J., "Plastic and Human Health: A Micro Issue?," *Environmental Science & Technology*, **51**(12), 6634-6647(2017).
14. Neufeld, L., Stassen, F., Sheppard, R. and Gilman, T., "The New Plastics Economy: Rethinking the Future of Plastics," *World Economic Forum*(2016).
15. Barnes, D. K., "Invasions by Marine Life on Plastic Debris," *Nature*, **416**(6883), 808-809(2002).
16. Ma, H., Pu, S., Liu, S., Bai, Y., Mandal, S. and Xing, B., "Microplastics in Aquatic Environments: Toxicity to Trigger Ecological Consequences," *Environmental Pollution*, **261**, 114089 (2020).
17. Mai, L., Bao, L.-J., Shi, L., Wong, C. S. and Zeng, E. Y., "A Review of Methods for Measuring Microplastics in Aquatic Environments," *Environmental Science and Pollution Research*, **25**(12), 11319-11332(2018).
18. Duis, K. and Coors, A., "Microplastics in the Aquatic and Terrestrial Environment: Sources (with a specific focus on personal care products), Fate and Effects," *Environmental Sciences Europe*, **28**(1), 2(2016).
19. Hidalgo-Ruz, V., Gutow, L., Thompson, R. C. and Thiel, M., "Microplastics in the Marine Environment: A Review of the Methods Used for Identification and Quantification," *Environmental Science & Technology*, **46**(6), 3060-3075(2012).

20. Song, Y. K., Hong, S. H., Jang, M., Kang, J.-H., Kwon, O. Y., Han, G. M. and Shim, W. J., "Large Accumulation of Micro-sized Synthetic Polymer Particles in the Sea Surface Microlayer," *Environmental Science & Technology*, **48**(16), 9014-9021(2014).
21. Green, D. S., Kregting, L., Boots, B., Blockley, D. J., Brickle, P., Da Costa, M. and Crowley, Q., "A Comparison of Sampling Methods for Seawater Microplastics and a First Report of the Microplastic Litter in Coastal Waters of Ascension and Falkland Islands," *Marine pollution bulletin*, **137**, 695-701(2018).
22. Enders, K., Lenz, R., Stedmon, C. A. and Nielsen, T. G., "Abundance, Size and Polymer Composition of Marine Microplastics $\geq 10 \mu\text{m}$ in the Atlantic Ocean and Their Modelled Vertical Distribution," *Marine pollution bulletin*, **100**(1), 70-81(2015).
23. Prata, J. C., da Costa, J. P., Duarte, A. C. and Rocha-Santos, T., "Methods for Sampling and Detection of Microplastics in Water and Sediment: A Critical Review," *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **110**, 150-159(2019).
24. Viršek, M. K., Palatinus, A., Koren, Š., Peterlin, M., Horvat, P. and Kržan, A., "Protocol for Microplastics Sampling on the Sea Surface and Sample Analysis," *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (118), e55161(2016).
25. Zhang, W., Zhang, S., Wang, J., Wang, Y., Mu, J., Wang, P., Lin, X. and Ma, D., "Microplastic Pollution in the Surface Waters of the Bohai Sea, China," *Environmental Pollution*, **231**, 541-548(2017).
26. Frère, L., Paul-Pont, I., Moreau, J., Soudant, P., Lambert, C., Huvet, A. and Rinnert, E., "A Semi-automated Raman Microspectroscopy Method for Morphological and Chemical Characterizations of Microplastic Litter," *Marine Pollution Bulletin*, **113**(1-2), 461-468(2016).
27. Kang, J.-H., Kwon, O. Y., Lee, K.-W., Song, Y. K. and Shim, W. J., "Marine Neustonic Microplastics Around the Southeastern Coast of Korea," *Marine pollution bulletin*, **96**(1-2), 304-312(2015).
28. Crawford, C. B. and Quinn, B., "Microplastic Pollutants," *Elsevier Limited*(2016).
29. Fischer, E. K., Paglialonga, L., Czech, E. and Tamminga, M., "Microplastic Pollution in Lakes and Lake Shoreline Sediments—a Case Study on Lake Bolsena and Lake Chiusi (central Italy)," *Environmental Pollution*, **213**, 648-657(2016).
30. Dris, R., Gasperi, J., Rocher, V., Saad, M., Renault, N. and Tassin, B., "Microplastic Contamination in An Urban Area: A Case Study in Greater Paris," *Environmental Chemistry*, **12**(5), 592-599(2015).
31. Lusher, A. L., Tirelli, V., O'Connor, I. and Officer, R., "Microplastics in Arctic Polar Waters: The First Reported Values of Particles in Surface and Sub-surface Samples," *Scientific reports*, **5**, 14947(2015).
32. Sutton, R., Mason, S. A., Stanek, S. K., Willis-Norton, E., Wren, I. F. and Box, C., "Microplastic Contamination in the San Francisco Bay, California, USA," *Marine pollution bulletin*, **109**(1), 230-235(2016).
33. Cózar, A., Martí, E., Duarte, C. M., García-de-Lomas, J., Van Sebille, E., Ballatore, T. J., Eguíluz, V. M., González-Gordillo, J. I., Pedrotti, M. L. and Echevarría, F., "The Arctic Ocean as a Dead End for Floating Plastics in the North Atlantic Branch of the Thermohaline Circulation," *Science Advances*, **3**(4), e1600582(2017).
34. van der Hal, N., Ariel, A. and Angel, D. L., "Exceptionally High Abundances of Microplastics in the Oligotrophic Israeli Mediterranean Coastal Waters," *Marine pollution bulletin*, **116**(1-2), 151-155(2017).
35. Tunçer, S., Artüz, O. B., Demirkol, M. and Artüz, M. L., "First report of Occurrence, Distribution, and Composition of Microplastics in Surface Waters of the sea of Marmara, Turkey," *Marine Pollution Bulletin*, **135**, 283-289(2018).
36. Mu, J., Zhang, S., Qu, L., Jin, F., Fang, C., Ma, X., Zhang, W. and Wang, J., "Microplastics Abundance and Characteristics in Surface Waters from the Northwest Pacific, the Bering Sea, and the Chukchi Sea," *Marine Pollution Bulletin*, **143**, 58-65(2019).
37. Tsang, Y., Mak, C., Liebich, C., Lam, S., Sze, E. T. and Chan, K., "Microplastic Pollution in the Marine Waters and Sediments of Hong Kong," *Marine Pollution Bulletin*, **115**(1-2), 20-28(2017).
38. Cózar, A., Sanz-Martín, M., Martí, E., González-Gordillo, J. I., Ubeda, B., Gálvez, J. Á., Irigoien, X. and Duarte, C. M., "Plastic Accumulation in the Mediterranean Sea," *PLoS One*, **10**(4), e0121762(2015).
39. Aytan, U., Valente, A., Senturk, Y., Usta, R., Sahin, F. B. E., Mazlum, R. E. and Agirbas, E., "First Evaluation of Neustonic Microplastics in Black Sea Waters," *Marine Environmental Research*, **119**, 22-30(2016).
40. Isobe, A., Uchiyama-Matsumoto, K., Uchida, K. and Tokai, T., "Microplastics in the Southern Ocean," *Marine Pollution Bulletin*, **114**(1), 623-626(2017).
41. Tamminga, M., Hengstmann, E. and Fischer, E. K., "Microplastic Analysis in the South Funen Archipelago, Baltic Sea, Implementing Manta Trawling and Bulk Sampling," *Marine Pollution Bulletin*, **128**, 601-608(2018).
42. Pan, Z., Sun, Y., Liu, Q., Lin, C., Sun, X., He, Q., Zhou, K. and Lin, H., "Riverine Microplastic Pollution Matters: A Case Study in the Zhangjiang River of Southeastern China," *Marine Pollution Bulletin*, **159**, 111516(2020).
43. Lusher, A., Welden, N., Sobral, P. and Cole, M., "Sampling, Isolating and Identifying Microplastics Ingested by Fish and Invertebrates," *Analytical Methods*, **9**(9), 1346-1360(2017).
44. Dehaut, A., Cassone, A.-L., Frère, L., Hermabessiere, L., Himber, C., Rinnert, E., Rivière, G., Lambert, C., Soudant, P. and Huvet, A., "Microplastics in Seafood: Benchmark Protocol for Their Extraction and Characterization," *Environmental Pollution*, **215**, 223-233(2016).
45. Cole, M., Webb, H., Lindeque, P. K., Fileman, E. S., Halsband, C. and Galloway, T. S., "Isolation of Microplastics in Biota-rich Seawater Samples and Marine Organisms," *Scientific Reports*, **4**, 4528(2014).
46. Claessens, M., Van Cauwenberghe, L., Vandegehuchte, M. B. and Janssen, C. R., "New Techniques for the Detection of Microplastics in Sediments and Field Collected Organisms," *Marine Pollution Bulletin*, **70**(1-2), 227-233(2013).
47. Qiu, Q., Tan, Z., Wang, J., Peng, J., Li, M. and Zhan, Z., "Extraction, Enumeration and Identification Methods for Monitoring Microplastics in the Environment," *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **176**, 102-109(2016).
48. Zhao, S., Danley, M., Ward, J. E., Li, D. and Mincer, T. J., "An Approach for Extraction, Characterization and Quantitation of Microplastic in Natural Marine Snow Using Raman Microscopy," *Analytical Methods*, **9**(9), 1470-1478(2017).

49. Lee, J., Park, C., Huh, I., Shin, K., Lee, S., Lee, Y., Lee, S. and Lee, S., "Studies on the Investigation Method of Microplastic in the Freshwater," *National Institute of Environmental Research* (2016).
50. Chae, D.-H., Kim, I.-S., Song, Y. K., Kim, S. and Kim, S.-K., "Development of Analytical Method for Microplastics in Seawater," (2014).
51. Hengstmann, E. and Fischer, E. K., "Nile Red Staining in Microplastic Analysis—proposal for a Reliable and Fast Identification Approach for Large Microplastics," *Environmental Monitoring and Assessment*, **191**(10), 612(2019).
52. Maes, T., Jessop, R., Wellner, N., Haupt, K. and Mayes, A. G., "A Rapid-screening Approach to Detect and Quantify Microplastics Based on Fluorescent Tagging with Nile Red," *Scientific Reports*, **7**(1), 1-10(2017).
53. Löder, M. G., Imhof, H. K., Ladehoff, M., Löschel, L. A., Lorenz, C., Mintenig, S., Piehl, S., Primpke, S., Schrank, I. and Laforsch, C., "Enzymatic Purification of Microplastics in Environmental Samples," *Environmental Science & Technology*, **51**(24), 14283-14292(2017).
54. Courtene-Jones, W., Quinn, B., Murphy, F., Gary, S. F. and Narayanaswamy, B. E., "Optimisation of Enzymatic Digestion and Validation of Specimen Preservation Methods for the Analysis of Ingested Microplastics," *Analytical Methods*, **9**(9), 1437-1445(2017).
55. Catarino, A. I., Thompson, R., Sanderson, W. and Henry, T. B., "Development and Optimization of a Standard Method for Extraction of Microplastics in Mussels by Enzyme Digestion of Soft Tissues," *Environmental Toxicology and Chemistry*, **36**(4), 947-951(2017).
56. Valine, A., "Nile Red Microplastic Validation: Enhancing the Study of Microplastics in Oregon's River Water," (2019).
57. Enders, K., Lenz, R., Beer, S. and Stedmon, C. A., "Extraction of Microplastic from Biota: Recommended Acidic Digestion Destroys Common Plastic Polymers," *ICES Journal of Marine Science*, **74**(1), 326-331(2017).
58. Lee, J., Lee, S., Park, T., Lee, S. and Lee, S., "Evaluation of Analysis Method and Investigation for Microplastic in Freshwater," *Journal of Korean Society on Water Environment*, **2018**, 399-400(2018).
59. Ziajahromi, S., Neale, P. A., Rintoul, L. and Leusch, F. D., "Wastewater Treatment Plants as a Pathway for Microplastics: Development of a New Approach to Sample Wastewater-based Microplastics," *Water Research*, **112**, 93-99(2017).
60. Anderson, P. J., Warrack, S., Langen, V., Challis, J. K., Hanson, M. L. and Rennie, M. D., "Microplastic Contamination in Lake Winnipeg, Canada," *Environmental Pollution*, **225**, 223-231(2017).
61. Zarfl, C., "Promising Techniques and Open Challenges for Microplastic Identification and Quantification in Environmental Matrices," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **411**(17), 3743-3756(2019).
62. Renner, G., Schmidt, T. C. and Schram, J. R., "A New Chemometric Approach for Automatic Identification of Microplastics from Environmental Compartments Based on ft-ir Spectroscopy," *Analytical Chemistry*, **89**(22), 12045-12053(2017).
63. Cincinelli, A., Scopetani, C., Chelazzi, D., Lombardini, E., Martellini, T., Katsoyiannis, A., Fossi, M. C. and Corsolini, S., "Microplastic in the Surface Waters of the Ross Sea (antarctica): Occurrence, Distribution and Characterization by Ftir," *Chemosphere*, **175**, 391-400(2017).
64. Hidalgo-Ruz, V. and Thiel, M., "Distribution and Abundance of Small Plastic Debris on Beaches in the se Pacific (chile): A Study Supported by a Citizen Science Project," *Marine Environmental Research*, **87**, 12-18(2013).
65. Kershaw, P., Turra, A. and Galgani, F., "Guidelines for the Monitoring and Assessment of Plastic Litter in the Ocean," (2019).
66. Shim, W. J., Hong, S. H. and Eo, S. E., "Identification Methods in Microplastic Analysis: A Review," *Analytical Methods*, **9**(9), 1384-1391(2017).
67. Song, Y. K., Hong, S. H., Jang, M., Han, G. M., Rani, M., Lee, J. and Shim, W. J., "A Comparison of Microscopic and Spectroscopic Identification Methods for Analysis of Microplastics in Environmental Samples," *Marine Pollution Bulletin*, **93**(1-2), 202-209(2015).
68. Lenz, R., Enders, K., Stedmon, C. A., Mackenzie, D. M. and Nielsen, T. G., "A Critical Assessment of Visual Identification of Marine Microplastic Using Raman Spectroscopy for Analysis Improvement," *Marine Pollution Bulletin*, **100**(1), 82-91(2015).
69. Bergmann, Melanie, Gutow, L. and Klages, M., "Marine Anthropogenic Litter," *Springer Nature*(2015).
70. Löder, M. G. and Gerdtts, G., "Marine Anthropogenic Litter," Springer(2015).
71. Löder, M. G. J., Kuczera, M., Mintenig, S., Lorenz, C. and Gerdtts, G., "Focal Plane Array Detector-based Micro-fourier-transform Infrared Imaging for the Analysis of Microplastics in Environmental Samples," *Environmental Chemistry*, **12**(5), 563-581(2015).
72. Araujo, C. F., Nolasco, M. M., Ribeiro, A. M. and Ribeiro-Claro, P. J., "Identification of Microplastics Using Raman Spectroscopy: Latest Developments and Future Prospects," *Water Research*, **142**, 426-440(2018).
73. Boyle, K. and Örmeci, B., "Microplastics and Nanoplastics in the Freshwater and Terrestrial Environment: A Review," *Water*, **12**(9), 2633(2020).
74. Dümichen, E., Barthel, A. K., Braun, U., Bannick, C. G., Brand, K. and Jekel, M. and Senz, R., "Analysis of Polyethylene Microplastics in Environmental Samples, Using a Thermal Decomposition Method," *Water research*, **85**, 451-457(2015).
75. Tsukame, T., Ehara, Y., Shimizu, Y., Kutsuzawa, M. and Saitoh, H. and Shibasaki, Y., "Characterization of Microstructure of Polyethylenes by Differential Scanning Calorimetry," *Thermochimica Acta*, **299**(1-2), 27-32(1997).
76. Fischer, M. and Scholz-Böttcher, B. M., "Simultaneous Trace Identification and Quantification of Common Types of Microplastics in Environmental Samples by Pyrolysis-gas Chromatography-mass Spectrometry," *Environmental Science & Technology*, **51**(9), 5052-5060(2017).
77. Käßler, A., Fischer, M., Scholz-Böttcher, B. M., Oberbeckmann, S., Labrenz, M., Fischer, D. and Voit, B., "Comparison of μ -atr-ftir Spectroscopy and py-gcms as Identification Tools for Microplastic Particles and Fibers Isolated from River Sediments," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **410**(21), 5313-5327(2018).
78. Gniadek, M. and Dbrowska, A., "The Marine nano- and Microplastics Characterisation by Sem-edx: The Potential of the Method

- in Comparison with Various Physical and Chemical Approaches' *Marine Pollution Bulletin*, **148**, 210-216(2019).
79. Vianello, A., Boldrin, A., Guerriero, P., Moschino, V., Rella, R., Sturaro, A. and Da Ros, L., "Microplastic Particles in Sediments of Lagoon of Venice, Italy: First Observations on Occurrence, Spatial Patterns and Identification," *Estuar Coast Shelf S*, **130**, 54-61 (2013).
80. Hildebrandt, L., Gareb, F. E., Zimmermann, T., Klein, O., Emeis, K.-C. and Proefrock, D., "Fast, Automated Microplastics Analysis Using Laser Direct Chemical Imaging," *Agilent* (2020).
81. Prata, J. C., Reis, V., Matos, J. T., da Costa, J. P., Duarte, A. C. and Rocha-Santos, T., "A New Approach for Routine Quantification of Microplastics Using Nile Red and Automated Software (mp-vat)," *Science of The Total Environment*, **690**, 1277-1283 (2019).
82. Lv, L., Qu, J., Yu, Z., Chen, D., Zhou, C., Hong, P., Sun, S. and Li, C., "A Simple Method for Detecting and Quantifying Microplastics Utilizing Fluorescent Dyes-safranin t, Fluorescein Iso-phosphate, Nile Red Based on Thermal Expansion and Contraction Property," *Environmental Pollution*, **255**, 113283(2019).
83. Shim, W. J., Song, Y. K., Hong, S. H. and Jang, M., "Identification and Quantification of Microplastics Using Nile Red Staining," *Marine Pollution Bulletin*, **113**(1-2), 469-476(2016).
84. Stanton, T., Johnson, M., Nathanail, P., Gomes, R. L., Needham, T. and Burson, A., "Exploring the Efficacy of Nile Red in Microplastic Quantification: A Costaining Approach," *Environ Sci Tech Let*, **6**(10), 606-611(2019).
85. Li, J. Y., Liu, H. H. and Chen, J. P., "Microplastics in Freshwater Systems: A Review on Occurrence, Environmental Effects, and Methods for Microplastics Detection," *Water Research*, **137**, 362-374(2018).
86. Kuo, F.-J. and Huang, H.-W., "Strategy for Mitigation of Marine debris: Analysis of Sources and Composition of Marine Debris in Northern Taiwan," *Marine Pollution Bulletin*, **83**(1), 70-78(2014).