DOI: 10.12398/j.issn.2096-7217.2024.01.007

基于碳基结构增敏型肥料中缩二脲检测的电化学传感器设计与评估

王林江[1], 王恒[2], 徐珊珊[1], 林则鑫[1], 郑阳[1], 张新爱[3*]

(1. 连云港市质量技术综合检验检测中心,江苏连云港,222000; 2. 连云港海关综合技术中心,江苏连云港,222042;
3. 江苏大学食品与生物工程学院,江苏镇江,212013)

摘要:肥料通过调控植物生长发育而直接影响农作物产量,是推动现代集约化农业实现作物高产优质的重要因素;然而,尿素、含尿素复合肥生产过程中极易产生副产物缩二脲,目前由于肥料中缩二脲含量过高造成农田作物毒害问题不容忽视。建立高效的肥料中缩二脲检测方法对保障肥料生产安全、促进我国农业绿色高质量发展具有现实意义。本研究立足于我国现代农业发展对优质肥料的迫切需求,构建基于碳基结构材料敏感响应的电化学传感界面,实现肥料中缩二脲的在线快速评估,有效克服液相色谱法、紫外分光光度法存在的样品预处理繁琐、分析成本高、样品浊度干扰大等不足。首先,制备了兼具碳基结构表面特性和纳米金优良导电性质的石墨烯—纳米金复合物,并将其作为传感界面修饰材料固定于电极表面;其次,利用缩二脲对铜离子电化学信号的抑制作用,建立了铜离子响应电流随缩二脲浓度变化的线性回归方程,借助智能手机获取信号,进而实现缩二脲的电化学快速分析。实验结果表明,铜离子产生的响应电流与缩二脲浓度在1~80 mmol/L范围内呈良好的线性关系,检出限为0.50 mmol/L(S/N=3);利用该电化学传感体系用于肥料样品中缩二脲的分析,检测结果与高效液相色谱法分析结果相对误差不超过6.9%。该电化学分析方法应用于肥料中缩二脲的在线检测便携程度高、可靠性好、准确度高,为肥料中缩二脲快速评估提供了新方法,科技创新赋能农作物高产优质。

关键词:电化学传感;肥料;缩二脲;碳基结构;在线监测

中图分类号:S1;O65 **文献标识码:**A **文章编号:**2096-7217(2024)01-0058-06

王林江, 王恒, 徐珊珊, 林则鑫, 郑阳, 张新爱. 基于碳基结构增敏型肥料中缩二脲检测的电化学传感器设计与评估[J]. 智能化农业装备学报(中英文), 2024, 5(1): 58-63

WANG Linjiang, WANG Heng, XU Shanshan, LIN Zexin, ZHENG Yang, ZHANG Xin'ai. Design and evaluation of electrochemical sensors for biuret detection in fertilizers sensitized with carbon-based structure [J]. Journal of Intelligent Agricultural Mechanization, 2024, 5(1): 58-63

0 引言

2023年,《中共中央 国务院关于做好2023年全面推进乡村振兴重点工作的意见》要求做好今后一个时期"三农"工作,全力抓好粮食生产,确保全国粮食产量保持在6.5×10^{11} kg以上。立足于我国农业绿色高质量发展的需求,强化农业科技和装备支撑、保障农资质量安全是促进粮食作物高产优质的必要举措。肥料作为重要的农资,是推动现代集约化农业发展的重要因素。然而,尿素、含尿素复合肥生产过程易产生副产物缩二脲,大量研究表明,缩二脲含量过高的肥料施于农田土壤中,对作物苗期生长发育的毒害作用会直接影响作物的最终产量[1-2]。近年来,由于肥料中缩二脲含量过高造成农田作物毒害和经济损失的事件屡有发生[3]。传统的缩二脲含量检测方法包括液相色谱法、紫外分光光度法,在缩二脲含量测定方面发挥了很大作用[4];但液相色谱法使用的仪器设备昂贵、样品预处理繁琐、分析成本高;紫外分光光度法易受样品浊度干扰,在很大程度上限制了其实际应用[5]。因此,建立高效的肥料中缩二脲检测方法对保障肥料生产安全、促进我国农业绿色高质量发展具有重大的现实意义。

电化学分析方法具有灵敏度高、响应速度快、易于便携化等优势,在诸多领域呈现出广阔的应用前景[6-7];尤其是在农作物农药残留、重金属迁移等农业

收稿日期:2023-11-10 修回日期:2024-01-15

基金项目:江苏省市场监督管理局科技计划项目(KJ2022084);连云港市重点研发计划(社会发展)项目(SF2349)

第一作者:王林江,男,1979年生,河南鹤壁人,硕士,高级工程师;研究方向为农用物资质量检验检测。E-mail: 1098401621@qq.com

*通信作者:张新爱,女,1982年生,山东滨州人,博士,副教授;研究方向为微纳传感方法建立及应用。E-mail: 147241633@qq.com

生产安全评估方面发挥了重要作用[8-9]。在电化学分析体系构建过程中，如何提升传感界面的导电性能，是放大电化学信号进而提高检测灵敏度的关键[10-11]。纳米结构材料由于比表面积大、电子传递速率快等优势而备受关注[12-13]，在电化学传感分析方面极具应用潜质[14-16]。本研究基于石墨烯—纳米金复合结构在传感界面的敏感响应特性，利用缩二脲与铜离子的络合作用构建电化学分析方法，借助智能手机实现肥料中缩二脲的在线快速评估。该检测方法提高了缩二脲检测的便携性、可靠性和准确度，实现了不同肥料样品质量评估，对保障肥料生产安全提供了技术借鉴。

1　实验设计

1.1　仪器与试剂

HY－E100X电化学工作站，采用丝网印刷三电极体系（图1）；JEM－2100透射电子显微镜（日本JEOL公司）。石墨烯（GO）购于江苏先丰纳米材料科技有限公司，缩二脲购于上海康朗生物科技有限公司，聚乙二醇、柠檬酸三钠、三水合氯金酸及其他试剂购于上海国药集团化学试剂有限公司。

实验所用试剂均为分析纯，实验用水为去离子水（＞18.2 MΩ·cm）。肥料测试样品取自于连云港市质量技术综合检验检测中心工作中检验样品。

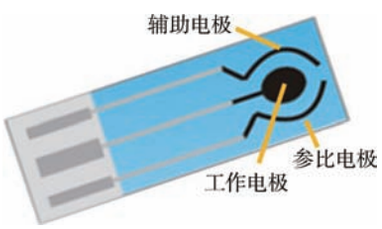


图1　丝网印刷三电极体系作为电化学传感界面

Figure 1　Electrochemical sensing interface using screen printing three-electrode system

1.2　碳基复合结构设计

利用水热法制备石墨烯—纳米金（GO@Au）复合结构材料。首先，在超声条件下，将10 mg石墨烯均匀分散于20 mL去离子水中；然后，以含有1%柠檬酸三钠的聚乙二醇（50 μL）为还原剂，将其和氯金酸（500 μL，质量比为1%）一起加入到上述石墨烯分散液中，并超声1 h；将上述混合体系加入到反应釜中，并于180 ℃下反应12 h；将上述体系慢慢冷却至室温后，将其用去离子水离心清洗3次，并将其分散于2 mL N，N－二甲基甲酰胺中备用。

1.3　电化学传感界面构建

首先，利用去离子水将丝网印刷电极超声清洗3次，并用洗耳球将其吹干。

其次，取10 μL上述石墨烯—纳米金分散液滴涂于丝网印刷电极的工作电极区域，并于红外灯下干燥。

最后，用去离子清洗后，将其置于5 mmol/L $Fe(CN)_6^{3-/4-}$中，并利用循环伏安法（CV）表征该修饰电极的导电性能。

1.4　肥料中缩二脲电化学测定

将一定量的缩二脲标准溶液置于烧杯中，随后向其中加入铜离子溶液，并将其混匀；将石墨烯—纳米金修饰的丝网印刷电极置于上述混合溶液中，采用差分脉冲伏安法（DPV）测定不同铜离子加入量时的响应电流，实现铜离子用量的优化。

在优化的铜离子用量条件下，利用差分脉冲伏安法测定不同缩二脲产生的响应电流；根据响应电流与缩二脲浓度之间的相关关系，建立线性回归方程。

在肥料测定之前，在超声条件下将其溶解于去离子水中，利用缩二脲测定方法，利用智能手机获取电化学信号；依据线性回归方程和获得的响应电流，计算肥料中缩二脲的含量。所有测定均在室温下进行。

2　电化学传感界面设计及检测原理

为了提升电化学传感界面的导电性能，选用石墨烯—纳米金（GO@Au）复合结构材料修饰丝网印刷电极，进而构建敏感响应的电化学传感界面（图2）。

首先，将合成的GO@Au超声分散于N，N－二甲基甲酰胺中；其次，将其滴涂于丝网印刷电极表面；电极干燥后，将其置于含有铜离子的溶液中进行电化学测定；随后向含有铜离子的溶液中滴加不同浓度缩二脲溶液；在没有缩二脲存在时，借助智能手机能够获取较大的电化学信号；随着缩二脲的逐步加入，铜离子产生的电流信号逐步变小；基于电流信号随缩二脲浓度增大而减小的相关关系，实现肥料中缩二脲含量的灵敏、快速分析。

3　实验结果分析

3.1　碳基结构材料表征

利用透射电镜技术（TEM）对石墨烯、石墨烯—纳米金的形貌特征进行表征（图3），从图3（a）中可以看出，石墨烯表面呈不规则的褶皱状，较大的比表面积为纳米金的固定提供了有利条件。图3（b）显示纳米金的粒径较为均一，且能较好地分布在石墨烯的表面。

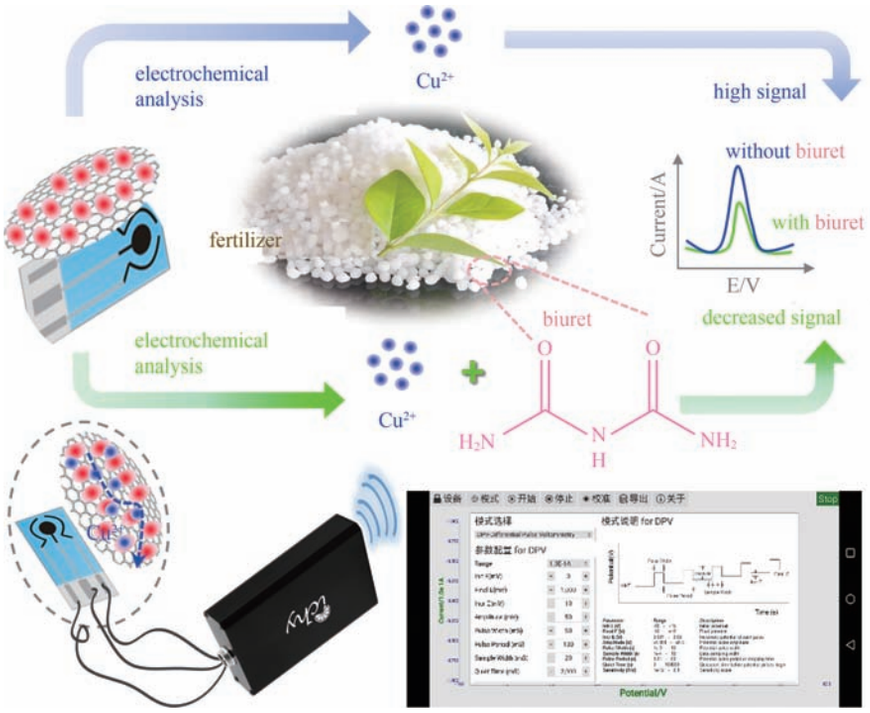
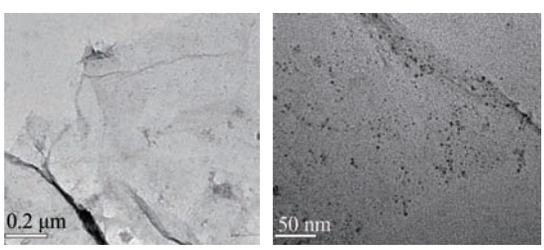


图 2　基于智能手机获取信号的电化学传感方法用于肥料中缩二脲快速评估

Figure 2　Schematic diagram of electrochemical sensing toward biuret in fertilizer using smartphone



(a)石墨烯　　(b)石墨烯—纳米金

图 3　采用透射电镜技术表征不同纳米结构材料的形貌特征

Figure 3　Morphological characteristics of TEM images for nanostructures

将合成的石墨烯—纳米金修饰于电极表面,通过测定不同扫速下循环伏安法产生的电流信号来计算修饰电极的表面积约为 10.96 mm^2(图 4),计算公式如式(1)。

$$I_p=2.69\times10^5AD^{1/2}n^{3/2}\upsilon^{1/2}C \tag{1}$$

式中:A——电极的表面积;

D——溶液的扩散系数(25 ℃,D=6.70×10^{-6} cm^2/s);

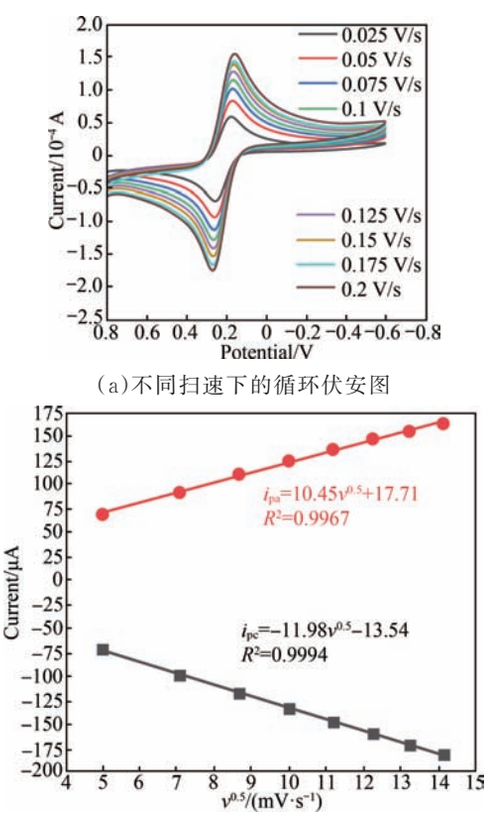
n——氧化还原反应中电子传递的数量(n=1);

C——反应物的浓度(5 mmol/L Fe(CN)$_6^{3-/4-}$);

I_p——氧化还原反应峰电流;

υ——循环伏安法的扫速。

其中,D,n,C为已知数,根据υ,可得到I_p;将上述数值带入式(1)中,即可计算出电极的表面积;依据不同扫速υ下对应的响应电流I_p,可以得到电极表面积的多个数值,通过计算平均值,即可求出电极的表面积。



(a)不同扫速下的循环伏安图

(b)电流与扫速的线性关系图

图 4　不同扫速下的循环伏安曲线及峰电流

Figure 4　Cyclic voltammetry curves at different scan rates for calculating surface area of sensing interface

注:i_{pa}为阳极峰电流,i_{pc}为阴极峰电流。

上述结果表明石墨烯—纳米金能够有效增大传感界面的表面积,对放大电化学信号进而提高检测灵敏

度起着重要作用。

3.2　电化学测定条件优化

缩二脲的电化学测定是基于缩二脲与铜离子的络合作用，通过分析铜离子电化学还原信号的减小值实现，故铜离子浓度对缩二脲测定具有重要影响；为此，对铜离子浓度进行了优化（图 5）。

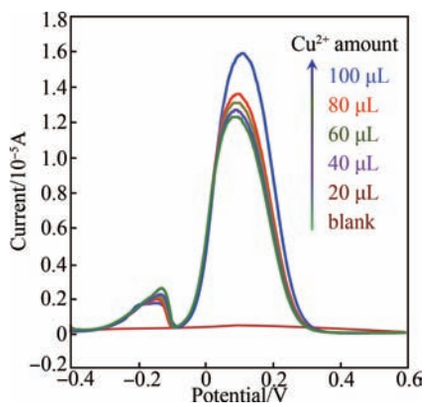


图 5　缩二脲用量 100 mmol/L 时，电流信号随铜离子用量增加的变化图

Figure 5　The variation of current response with increasing Cu^{2+} amount under 100 mmol/L biuret

首先，向烧杯中加入 1.5 mL 0.1 mol/L 缩二脲，然后向其中逐步加入 0.10 mol/L 铜离子；随着铜离子加入量的增大，电流信号增加较少；当铜离子加入量为 100 μL 时，电化学信号增幅明显加大，故选取 80 μL 为铜离子用量。

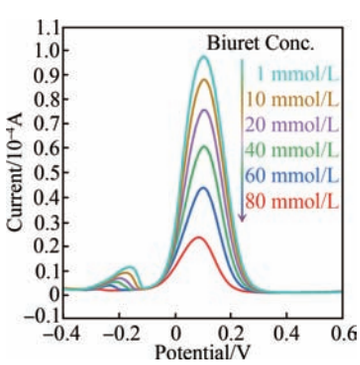
3.3　用于缩二脲测定的线性回归方程建立

在优化的实验条件下，利用本方法检测不同浓度的缩二脲标准溶液。

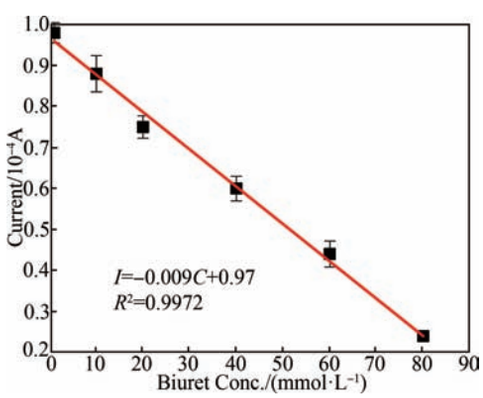
图 6(a)是铜离子产生的响应电流随待测缩二脲浓度升高的变化图。

实验结果表明，铜离子产生的电流信号与缩二脲浓度在 1～80 mmol/L 范围内呈良好的线性关系，如图 6(b)所示，线性回归方程为 $I=-0.009C+0.97$（I 为响应电流，C 为缩二脲的浓度），$R^2=0.997\ 2$，检出限为 0.50 mmol/L（三倍信噪比 $S/N=3$）。

相比于传统的分析方法，该技术用于缩二脲的检测提高了分析效率，整个电化学分析可以在 30 min 内完成，且操作简单，易于便携化，能够满足现场快速检测缩二脲的需求。



(a)电化学传感体系检测缩二脲产生的响应电流



(b)响应电流与缩二脲浓度间的线性回归方程

图 6　电化学传感器用于检测不同浓度的缩二脲

Figure 6　Electrochemical sensing toward biuret at different concentrations

3.4　电化学传感界面的稳定性及测定重复性

将石墨烯—纳米金修饰电极置于 4 ℃冰箱 2 周后取出，将其置于含有铜离子的溶液中，向其中加入 20 mmol/L 缩二脲，利用差分脉冲伏安法进行测定，获取电流信号（75.7 μA）为初始值（79 μA）的 95.8%，证实了该电化学传感体系具有良好的稳定性。同时，选定 3 个浓度的缩二脲（20 mmol/L、40 mmol/L、60 mmol/L）为待测物，利用批内、批间的相对标准偏差（RSD）评估该电化学方法的重复性；对同一烧杯中同种浓度的缩二脲进行测定 5 次，3 个浓度缩二脲测定的批内相对标准偏差分别为 4.9%，5.8% 和 6.2%；利用 3 个烧杯做平行实验，分别向其中逐步滴加缩二脲，使每一个烧杯中缩二脲浓度逐步增至 20 mmol/L、40 mmol/L、60 mmol/L，并对其进行测定，批间相对标准偏差分别为 5.3%，6.4% 和 5.6%，表明本方法具有良好的检测重复性。

3.5　回收率实验

为了研究该电化学分析方法的实际应用价值，本文采用该方法对不同肥料样品（H2023WTS0994、H2023WTS0520、H2023WTS0383、H2023LZJ0014、H2023LZJ0004、H2023LZJ0018）进行分析。用缓冲溶液将肥料样品溶解后，利用缩二脲电化学检测方法对其进行检测，测定结果如表 1 所示。

该分析方法与液相色谱法的相对误差（Relative Error，R. E.）在 ±7% 以内，表明该电化学分析方法用于肥料中缩二脲的检测具有准确度高、可靠性好的

优势。

表 1 肥料中缩二脲的测定(n=5)

Table 1 Detection results for biuret in fertilizer

样品序号	高效液相色谱法/(mmol·L^{-1})	本方法/(mmol·L^{-1})	相对误差/%
1	13.6	14.3	5.15
2	5.8	5.5	5.17
3	60	63.4	5.67
4	7.6	10.8	4.21
5	68	65.4	3.82
6	2.9	3.1	6.90

4 结论

针对我国现代农业发展对优质肥料的迫切需求,本文设计基于碳基结构敏感响应的电化学传感界面,实现了肥料中缩二脲的在线快速评估。在此过程中,制备了优异导电性能的石墨烯—纳米金复合材料,该材料能够使传感界面的比表面积增大至 10.96 mm^2,将其修饰于传感界面有效提升了电子传递能力实现电信号放大;其次,利用缩二脲与铜离子的络合作用,借助于智能手机构建了电化学分析方法。结果表明,响应电流与缩二脲浓度在 1~80 mmol/L 范围内呈良好的线性关系,检出限为 0.50 mmol/L(S/N=3);该电化学传感体系用于肥料样品中缩二脲的检测结果与高效液相色谱法分析结果相对误差不超过 6.9%。

在此基础上,将该电化学分析方法应用于肥料中缩二脲的在线检测便携程度高、可靠性好、准确度高,尤其是克服了传统方法中样品预处理繁琐、颜色浊度干扰大的不足,为肥料生产、施肥过程中缩二脲的快速评估提供了技术借鉴,助力农业生产中作物的高产优质。

参 考 文 献

[1] LIU J, YU S, HU S, et al. A diffuse reflectance portable near infrared spectroscopy system for the determination of biuret content in urea fertilizer [J]. Journal of Near Infrared Spectroscopy, 2023, 31: 33−40.

[2] KAASENBROOD P, VAN DEN BERG P, REVALLIER L. Fertilizer contaminants, biuret formation in the manufacture of urea [J]. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 1963, 11: 39−43.

[3] OCHIAI K, NOMURA Y, UESUGi A, et al. Biuret toxicity induces accumulation of nitrogen-rich compounds in rice plants [J]. Plant and Soil, 2022, 485: 615−628.

[4] LIU Z L, PAN J H. A practical method for extending the biuret assay to protein determination of corn-based products [J]. Food Chemistry, 2017, 224 (JUN. 1): 289−293.

[5] 高振,卢彩云,李洪文,等. 基于计算机视觉的种子分布信息检测关键技术研究现状与趋势[J]. 智能化农业装备学报(中英文), 2023, 4(3): 50−60.
GAO Zhen, LU Caiyun, LI Hongwen, et al. Research progress and the prospect of crucial technology of seed spacing information detection based on computer vision [J]. Journal of Intelligent Agricultural Mechanization, 2023, 4(3): 50−60.

[6] 董晓娅,王旭锐,黄华杰,等. 纳米通道适配体传感器对马拉硫磷的检测[J]. 排灌机械工程学报, 2022, 40(6): 635−641.
DONG Xiaoya, WANG Xurui, HUANG Huajie, et al. Detection of Malathion by nanochannel aptamer sensor [J]. Journal of Drainage and Irrigation Machinery Engineering, 2022, 40(6): 635−641.

[7] 郭文娟,冯全. 基于类激活映射的可解释性方法在农作物检测识别中的发展现状与趋势[J]. 智能化农业装备学报(中英文), 2023, 4(4): 41−48.
GUO Wenjuan, FENG Quan. Development status and trends of interpretability methods based on class activation mapping in crop detection and recognition [J]. Journal of Intelligent Agricultural Mechanization, 2023, 4 (4): 41−48.

[8] ZHANG X A, HUANG X Y, XU Y W, et al. Single-step electrochemical sensing of ppt-level lead in leaf vegetables based on peroxidase-mimicking metal-organic framework [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2020, 168: 112544.

[9] UMAPATHI R, GHOREISHIAN S M, SONWAL S, et al. Portable electrochemical sensing methodologies for on-site detection of pesticide residues in fruits and vegetables [J]. Coordination Chemistry Reviews, 2021, 453: 214305.

[10] ZHANG X A, ZHU M C, JIANG Y J, et al. Simple electrochemical sensing for mercury ions in dairy product using optimal Cu^{2+}−based metal-organic frameworks as signal reporting [J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 400: 123222.

[11] BOURIGUA S, BOUSSEMA F, BOUAAZI D, et al. Sensitive electrochemical detection of l−tryptophan using a glassy carbon electrode modified with pectin extracted from Arthrocnemum indicum leaves [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2024, 953: 117998.

[12] HUANG X W, HUANG C Y, ZHOU L L, et al. Allosteric switch for electrochemical aptasensor toward heavy metals pollution of Lentinus edodes sensitized with

porphyrinic metal-organic frameworks [J]. Analytica Chimica Acta, 2023, 1278: 341752.
[13] STEIJLEN A S M, PARRILLA M, VAN E R, et al. Dual microfluidic sensor system for enriched electrochemical profiling and identification of illicit drugs on-site [J]. Analytical Chemistry, 2024, 96: 590−598.
[14] ZHANG X A, JIANG Y J, ZHU M C, et al. Electrochemical DNA sensor for inorganic mercury(II) ion at attomolar level in dairy product using Cu(II)-anchored metal-organic framework as mimetic catalyst [J]. Chemical Engineering Journal, 2020, 383: 123182.
[15] MOHAMMED-SADHAKATHULLAH A H M, PAULO-MIRASOL S, MOLINA B G, et al. PLA-PEG-Cholesterol biomimetic membrane for electrochemical sensing of antioxidants [J]. Electrochimica Acta, 2024, 476: 143716.
[16] SINGH P, MANDAL D, CHANDRA A, et al. Zinc stannate oxide perovskite nanomaterial based electrochemical detection of ammonia [J]. Sensors and Actuators: A. Physical, 2024, 366: 114955.

Design and evaluation of electrochemical sensors for biuret detection in fertilizers sensitized with carbon-based structure

WANG Linjiang[1], WANG Heng[2], XU Shanshan[1], LIN Zexin[1], ZHENG Yang[1], ZHANG Xin′ai[3*]

(1. *Lianyungang Comprehensive Inspection and Testing Center for Quality and Technology*, *Lianyungang* 222000, *China*; 2. *Lianyungang Customs Integrated Technology Center*, *Lianyungang* 222042, *China*; 3. *School of Food and Biological Engineering*, *Jiangsu University*, *Zhenjiang* 212013, *China*)

Abstract: Fertilizer directly affects crop yield by regulating plant growth and development, and it is an important factor in promoting modern intensive agriculture for high yield and quality of crops. However, urea and urea containing compound fertilizers are prone to produce byproducts such as biuret. Currently, the high content of biuret in fertilizers causes crop toxicity in farmland, which cannot be ignored. Therefore, it is of practical significance to establish an efficient method for detecting biuret in fertilizers, ensuring the safety of fertilizer production and promoting the green and high-quality development of agriculture in China. This research is based on the urgent demand for high-quality fertilizers in the development of modern agriculture in China, and a sensitive electrochemical sensing interface based on carbon-based structural materials is constructed to achieve online and rapid evaluation of biuret in fertilizers and effectively overcomes the shortcomings of liquid chromatography and UV spectrophotometry, such as cumbersome sample pretreatment, high analysis cost, and large sample turbidity interference. During the electrochemical assay, a graphene-nanogold composite is firstly prepared as a sensing interface modification material, which combines the surface characteristics of carbon-based structure with the excellent conductivity of nanogold; Secondly, based on the inhibitory effect of biuret on electrochemical signal of copper ions, a linear regression equation is established for the response current of copper ions with the variation of biuret concentration. With the help of a smartphone obtaining electrochemical signal, rapid electrochemical analysis of biuret is achieved. The experimental results demonstrate that there is a good linear relationship between the response current generated by copper ions and the concentration of biuret in the range of 1−80 mmol/L, with a detection limit of 0.50 mmol/L (S/N=3); The electrochemical sensing system is used for the analysis of biuret in fertilizer samples, and the relative errors between the detection results and those by high-performance liquid chromatography do not exceed 6.9%. Overall, this electrochemical method is applied to the online detection of biuret in fertilizers with high portability, reliability, and accuracy, aiming for technological innovation empowering crops with high yield and quality.

Keywords: electrochemical sensing; fertilizer; biuret; carbon-based structure; online monitoring