



Nitrate concentration Measurement in Cress Plant Using a Colorimetric Sensor based on Gold nanoparticles

Marzieh Sepahvand¹ | Hossein Mirseyed Hosseini² | Forough Ghasemi³

1. Department of Soil Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail:

marzieh.sepahvand@ut.ac.ir

2. Corresponding Author, Department of Soil Science, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran. E-mail: mirseyed@ut.ac.ir

3. Department of Nanotechnology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran (ABRII), Agricultural Research, Education, and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. E-mail: forough.ghasemi@abrii.ac.ir

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article	Due to the necessity of regular and rapid evaluation of nitrate, the development of methods with the ability to detect this compound accurately and simple is important. Nowadays, colorimetric methods have received much attention due to their ability to detect simple and visual. In this study, which was carried out in 2022 with cooperation of Tehran university and the Agricultural Biotechnology Research Institute, a colorimetric method based on etching of gold nanorods for qualitative and quantitative detection of nitrate was presented. The measurement of nitrate ions (after reduction of nitrate to nitrite by zinc powder) at room temperature is possible by changing the size of the plasmonic nanoparticles and subsequently generating measurable signals, including spectral and color changes. Under optimal conditions, a good linear relationship between nitrate concentration and colorimetric response in the range of 0.5 to 3.0 mM ($R^2=0.995$) with a detection limit of 173.3 μM was found. Also, considering that vegetables, especially leafy vegetables, have a high potential in nitrate absorption, in this research cress plant was used as an indicator plant to investigate the efficiency of the sensor in determining the nitrate of leafy plants. Recovery values for nutrient solution and cress tissue samples was in the range of 94.4 to 101.9 and 93.4 to 98.5%, respectively, and relative standard deviation (RSD) for all samples was calculated below 2.1%. As a result, the presented method in this study provides the possibility of monitoring the actual level of nitrate in cress plant samples.
Article history:	
Received: May. 10, 2023	
Revised: Aug. 11, 2023	
Accepted: Aug. 22, 2023	
Published online: Oct. 23, 2023	
Keywords: Colorimetric Detection, Cress Plant, Gold Nanorods, Nitrate.	

Cite this article: Sepahvand, M., Mirseyed Hosseini, H., & Ghasemi, F. (2023) Nitrate concentration Measurement in Cress Plant Using a Colorimetric Sensor based on Gold nanoparticles, *Iranian Journal of Soil and Water Research*, 54 (8), 1147-1157. <https://doi.org/10.22059/ijswr.2023.335911.669498>

© The Author(s).

Publisher: University of Tehran Press.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijswr.2023.335911.669498>



سنجش غلظت نیترات در گیاه شاهی با استفاده از حسگر رنگ‌سنجی مبتنی بر نانوذرات طلا

مرضیه سپهوند^۱ | حسین میرسیدحسینی^۲ | فروغ قاسمی^۳^۱ گروه علوم خاک، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: marzieh.sepahvand@ut.ac.ir^۲ نویسنده مسئول، گروه علوم خاک، دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه تهران، کرج، ایران. رایانامه: mirseyed@ut.ac.ir^۳ بخش نانوتکنولوژی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. رایانامه: forough.ghasemi@abrii.ac.ir

اطلاعات مقاله

چکیده

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۲/۲۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۵/۲۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۵/۳۱

تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۸/۱

واژه‌های کلیدی:

تشخیص رنگ‌سنجی،

گیاه شاهی،

نانوميله‌های طلا،

نیترات.

با توجه به ضرورت ارزیابی منظم و سریع نیترات، توسعه روش‌هایی با قابلیت تشخیص دقیق و ساده این ترکیب دارای اهمیت می‌باشد. امروزه روش‌های رنگ‌سنجی به دلیل قابلیت تشخیص ساده و بصری بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این مطالعه که در سال ۱۴۰۱ با همکاری دانشگاه تهران و پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی انجام شد، یک روش رنگ‌سنجی بر پایه خوردگی نانوميله‌های طلا برای تشخیص کیفی و کمی نیترات ارائه شد. اندازه‌گیری یون‌های نیترات (پس از کاهش نیترات به نیتريت توسط پودر روی) در دمای اتاق با تغییر اندازه نانوذرات پلاسماونی و متعاقباً تولید سیگنال‌های قابل اندازه‌گیری، از جمله تغییرات طیفی و رنگی امکان‌پذیر است. در شرایط بهینه، یک رابطه خطی خوب بین غلظت نیترات و پاسخ رنگ‌سنجی در محدوده ۰/۵ تا ۳/۰ میلی‌مولار ($R^2=0/995$) با حد تشخیص ۱۷۳/۳ میکرومولار حاصل شد. همچنین، با توجه به اینکه سبزی‌ها به خصوص سبزی‌های برگ‌پتانسیل بالایی در جذب نیترات دارند، در این پژوهش از شاهی به عنوان گیاه شاخص جهت بررسی کارایی حسگر در تعیین نیترات گیاهان برگ‌پتانسیل استفاده شد. مقادیر بازیابی برای نمونه‌های محلول غذایی و بافت شاهی به ترتیب در محدوده ۹۴/۴ تا ۱۰۱/۹ و ۹۳/۴ تا ۹۸/۵ درصد و انحراف استاندارد نسبی برای همه نمونه‌ها زیر ۲/۱ درصد محاسبه شد. در نتیجه روش ارائه شده در این پژوهش امکان نظارت بر سطح واقعی نیترات در نمونه‌های گیاه شاهی را فراهم می‌کند.

استناد: سپهوند؛ مرضیه، میرسیدحسینی؛ حسین، قاسمی؛ فروغ، (۱۴۰۲) سنجش غلظت نیترات در گیاه شاهی با استفاده از حسگر رنگ‌سنجی مبتنی بر نانوذرات طلا، مجله

تحقیقات آب و خاک ایران، ۵۴ (۸)، ۱۱۴۷-۱۱۵۷. <https://doi.org/10.22059/ijswr.2023.335911.669498>

© نویسندگان.

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

DOI: <https://doi.org/10.22059/ijswr.2023.335911.669498>

مقدمه

نیتروژن یکی از مهم‌ترین عناصر موجود در طبیعت است که به صورت گاز نیتروژن (N_2) در اتمسفر موجود است. این شکل از نیتروژن برای گیاهان غیرقابل استفاده بوده و بنابراین لازم است به دیگرگونه‌های نیتروژنی از قبیل نیتريت، نیترات و یا آمونیوم در طی فرآیندهای تغییر شکل در چرخه نیتروژن تبدیل شود (Provin & Hossner, 2001). به طور معمول، ترکیبات نیتروژن دار برحسب تغییرات در درجه اکسیداسیون شیمیایی و توسط میکروارگانیسم‌های گوناگون در محیط زیست، به یکدیگر تبدیل می‌شوند. طی فرآیند آمونیفیکاسیون^۱، نیتروژن آلی به آمونیوم و سپس در فرآیند نیتریفیکاسیون^۲، آمونیوم به نیتريت و سپس نیترات تبدیل می‌شود (Michalski & Kurzyca, 2006).

امروزه با تغییر الگوی زندگی، افزایش مصرف غذاهای فرآوری شده و استفاده بی‌رویه از ترکیبات شیمیایی حاوی نیترات جهت تأمین غذای مصرفی جمعیت، میزان دریافت نیترات از طریق غذا افزایش یافته است. موجودات زنده از طریق سیستم آب- خاک- گیاه- اتمسفر در معرض نیترات قرار می‌گیرند. اما، منابع اصلی قرار گرفتن در معرض این ترکیب در بدن انسان شامل آب آشامیدنی، سبزی‌ها و محصولات گوشتی فرآوری شده می‌باشد. سبزی‌ها منبع اصلی این ترکیبات در رژیم غذایی هستند. میانگین مصرف روزانه نیترات در انسان حدود ۱۳۰-۳۰ میلی‌گرم در روز است که بیش از ۸۰ درصد آن از سبزی‌ها و ۱۰-۵ درصد از آب آشامیدنی تأمین می‌شود (Tannenbaum & Walstra, 2009; Hord et al, 2000). غلظت نیترات از ۲۰۰ تا ۲۵۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در میوه‌ها و سبزی‌ها متغیر است. با این حال، غلظت نیترات ممکن است در سبزی‌های پوسیده، ترش یا با ذخیره نامناسب (شرایط نامناسب نگهداری سبزیجات در انبار و یا انجام عملیات بر روی آن‌ها) به چندین برابر این مقدار برسد (WHO, 2011). به طور کلی سه عامل ژنتیکی، محیطی و کشاورزی از فاکتورهای مؤثر در جذب و تجمع نیترات در بافت‌های گیاهی می‌باشند. همچنین مطالعات زیادی به بالاتر بودن مقدار نیترات در سبزی‌های برگی در مقایسه با سبزی‌های غده‌ای و میوه‌ای اشاره داشته‌اند (Santamaria, 2006; Bahadoran et al, 2016; Bondonno et al, 2018; Uddin et al, 2021).

علی‌رغم مزایای نیترات در غلظت‌های پایین مانند بهبود جریان خون (WHO, 2016; Ahluwalia, 2016) و اثرات محافظتی بر روی سیستم قلبی- عروقی (Lundberg, 2006)، تأثیرات منفی آن بر سلامت انسان و حیوانات در هنگام مواجهه دائم یا مصرف بدون آگاهی نگرانی‌های بسیاری را ایجاد کرده است. مصرف نیترات در زنان باردار خطر فلج شدن و سقط جنین را افزایش می‌دهد (Manassaram, 2010). به طور کلی، زمانی که نیترات به نیتريت احیاء می‌شود، سلامت موجودات زنده را تهدید می‌کند (Santamaria, 2006; Wang et al, 2017). نیتريت قادر است در واکنش با آمین‌های ثانویه و آمیدها در حفره دهان و معده به شکل ترکیبات سمی و سرطان‌زای نیتروزآمین تبدیل شود که مطالعات زیادی نیز مبنی بر سرطان‌زا بودن این ترکیب در اندام‌های گوارشی گزارش شده است (Suzuki et al, 2003; Speijers & Van den Brandt, 2003; Honikel, 2008; Hyde et al, 2014). علاوه بر این نیتريت با تبدیل برگشت‌ناپذیر هموگلوبین خون به متهموگلوبین، توانایی هموگلوبین خون در تبادل اکسیژن در بافت‌های بدن را کاهش می‌دهد که می‌تواند منجر به بیماری متهموگلوبینمیا^۳ (سندرم کودک آبی) شود (Greer & Shannon, 2005; Titov & Petrenko, 2005; Ward et al, 2005). با توجه به موارد گفته شده، نظارت بر سرنوشت زیست محیطی نیترات اهمیت فزاینده‌ای پیدا کرده است و تشخیص و تعیین سریع و دقیق آن یکی از نیازهای اساسی به شمار می‌رود.

روش‌های متعددی از جمله طیف‌سنجی، الکتروشیمیایی، کروماتوگرافی، الکتروفورز مویرگی و تزریق جریان به منظور تشخیص و تعیین نیترات گزارش شده است. به طور کلی، این روش‌ها علی‌رغم داشتن مزایایی چون دقت و حساسیت بالا، به دلیل اشکالاتی چون زمان‌بر بودن، پرهزینه بودن، عدم تکرارپذیری، مشکل قابلیت حمل، تداخل‌های ناشی از ماتریس نمونه و تولید ضایعات شیمیایی چندان رضایت‌بخش نیستند (Wang et al, 2016; Alahi & Mukhopadhyay, 2018). در حال حاضر روش‌های رنگ‌سنجی به دلیل قابلیت تشخیص ساده و سریع مورد توجه قرار گرفته‌اند.

در سال‌های اخیر، روش‌های زیادی برای اندازه‌گیری آنالیت‌های مختلف با استفاده از خواص نانوذرات پلاسمونیک پیشنهاد شده است. خصوصیات نوری نانوذرات فلزی که با روش‌های طیف‌سنجی کاملاً قابل کنترل و اندازه‌گیری هستند، علم پلاسمونیک را به یکی از

1. Ammonification
2. Nitrification
3. Methemoglobinemia



مهم‌ترین و اساسی‌ترین زمینه‌های تحقیق تبدیل کرده است. این خصوصیات با پدیده‌ای که تشدید پلاسمون سطحی موضعی^۱ (LSPR) نامیده می‌شود همبستگی دارند. این پدیده از تحریک الکترون‌ها و ایجاد حرکت‌های نوسانی در نانوذرات فلزی نشأت می‌گیرد. LSPR اثر تابش الکترومغناطیسی اتفاق می‌افتد، که منجر به انعکاس و جذب شدید در یک طول موج مشخص می‌شود که به نانومواد فلزی رنگ خاصی می‌دهد و ساختار نانو فلز را به یک حسگر حساس برای تشخیص تغییرات در محیط اطراف تبدیل می‌کند (Kelly et al, 2003). در میان نانوذرات مورد مطالعه، نانو ذرات طلا به دلیل ویژگی‌های نوری، کوانتومی، فیزیکی و سازگاری زیستی بالا، پتانسیل بالایی برای تشخیص آنالیت دارند و در میان نانو ساختارهای طلا، نانوذرات میله‌ای طلا^۲ (AuNRs) به دلیل ساختار ناهمسانگرد، پایداری شیمیایی در محیط‌های مختلف و حساسیت زیاد، بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند، زیرا با بروز تغییرات کوچک در شکل و اندازه نانوذرات میله‌ای طلا، تغییرات آشکاری در رنگ محلول رخ می‌دهد (Zhang et al, 2012).

در بیشتر روش‌ها از جمله رنگ‌سنجی، نیترات به طور غیرمستقیم و پس از کاهش به نیتريت شناسایی می‌شود. نیترات توسط آنزیم‌ها و یا کاتالیزگرهای مختلف فلزی از جمله روی، مس، کادمیوم یا جیوه به نیتريت تبدیل می‌شود (Hooda et al, 2016). یکی از راه‌های تبدیل نیترات به نیتريت استفاده از آنزیم نیترات ردوکتاز می‌باشد. علی‌رغم سادگی، سازگاری محیطی، سرعت زیاد و حساسیت زیاد؛ این روش هزینه‌بر است. علاوه بر این، فعالیت و هدایت الکتریکی ضعیف نیترات ردوکتاز، حساسیت به حرارت و در نتیجه ثابت کم در آزمایشگاه از دیگر مشکلات این روش است (Sorte & Basak, 2010; Hooda et al, 2016). در روشی دیگر، نیترات توسط فلزاتی مانند کادمیوم، مس، روی، جیوه یا وانادیوم به نیتريت تبدیل می‌شود. اگرچه این روش ارزان است، اما بدون اشکال نیست (Mir, 2007; Jaikang et al, 2018). به عنوان مثال، کادمیوم و جیوه اگرچه فلزاتی مؤثر با راندمان کاهش زیاد هستند، اما سنگین و سمی بوده، به سختی دفع می‌شوند و برای سلامتی انسان و محیط زیست نیز مضر هستند. در برخی مطالعات فلزات با ظرفیت صفر از جمله آهن، روی و منیزیم به منظور کاهش نیترات به نیتريت گزارش شده‌اند (Kumar & Chakraborty, 2006; Suzuki et al, 2012; Bao et al, 2017). روی صفر ظرفیتی^۳ (ZVZ) به عنوان یک فلز امیدوارکننده برای واکنش‌های کاهشی گزارش شده است، زیرا ZVZ برای محیط زیست سمی نیست، احیاکننده قوی‌تری نسبت به دیگر فلزات صفر ظرفیتی است و تنها یک مرحله اکسیداسیون برای ZVZ وجود دارد. در نتیجه، ZVZ می‌تواند فلز صفر ظرفیتی مناسب‌تری برای احیاء نیترات به نیتريت باشد (Tratnyek et al, 2010).

با توجه به اهمیت اندازه‌گیری آسان و مقرون به صرفه نیترات و همین‌طور سازگاری با محیط زیست، استفاده از روشی که بتواند توجه مناسبی برای موارد گفته شده باشد حائز اهمیت می‌باشد. در این پژوهش، قابلیت یک حسگر نیتريت طراحی شده جهت تشخیص یون نیترات در گیاه شاهی و محلول غذایی با افزودن یک مرحله کاهش فلزی توسعه داده شده است. بنابراین در این پژوهش ابتدا نیترات توسط ZVZ به نیتريت احیا شد و سپس غلظت نیتريت (نیترات احیا شده) نمونه‌های حقیقی توسط حسگر رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد.

مواد و روش‌ها

مواد آزمایشی

اسید کلروآوریک ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)، ستیل تری‌متیل آمونیوم برومید (CTAB)، بافر گلیسین - اسید کلریدریک (Glycine-HCl)، تیواوره (H_2NCSNH_2 , Thiourea)، اسید اسکوربیک (AA , $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$)، نیترات نقره (AgNO_3)، ۵-برومو سالیسیلیک اسید (5-BrSA)، پودر روی (Zinc powder)، سدیم نیترات (NaNO_3)، هیدروکلریک اسید (HCl)، پتاسیم نیترات (KNO_3) و متانول (CH_3OH) از شرکت سیگما خریداری شدند. برای تهیه کلیه محلول‌ها از آب دیونیزه ($18.2 \text{ M}\Omega$) استفاده شد.

سنتز نانو ذرات میله‌ای طلا

به منظور سنتز نانوذرات میله‌ای طلا، ۱۰ میلی‌گرم 5-BrSA به ۵/۰ میلی‌لیتر محلول CTAB (۰/۱ مولار) اضافه شد. پس از انحلال کامل، ۹۶ میکرولیتر از محلول AgNO_3 (۰/۰۱ مولار) اضافه شد. محلول به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق به آرامی هم زده شده و سپس ۵/۰ میلی‌لیتر محلول $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (۰/۰۰۱ مولار) به مخلوط اضافه شد. پس از ۱۲۰ دقیقه، ۲۶ میکرولیتر محلول ۰/۱ مولار AA تحت هم زدن شدید اضافه شد تا بی‌رنگ شود. در نهایت، ۱۶ میکرولیتر محلول هسته اولیه به محلول فوق تزریق شد. بعد از ۳۰ ثانیه،

هم‌زدن متوقف شد و حداقل ۴ ساعت در دمای اتاق بدون مزاحمت باقی ماند. رنگ محلول به تدریج به بنفش تغییر کرده و نانوذرات میله‌ای با دو پیک عرضی و طولی به ترتیب در طول موج‌های ۵۲۲ و ۷۲۸ نانومتر ستر شدند (Scarabelli et al, 2013).

سنجش نیترات

احیاء نیترات به نیتريت

نیترات با استفاده از روی صفر ظرفیتی شسته شده با اسید^۱ (AW-ZVZ) کاهش یافت (Chiu et al, 2020). برای تهیه AW-ZVZ، ۵۰۰ میکرولیتر محلول HCl (۱/۰ مولار) به ۰/۰۶ گرم پودر روی اضافه شد. مخلوط حاصل توسط ورتکس به مدت ۲ دقیقه در دمای اتاق تکان داده شد. AW-ZVZ با استفاده از سرعت چرخش ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (Sigma, Laborzentrifugen, 3K30) و به مدت ۱۰ دقیقه جمع‌آوری شد و یک مرتبه با آب دیونیزه گاززدایی شده، مشابه مرحله شستشو با اسید ابتدا شیک و سپس سانتریفیوژ شد. برای کاهش نیترات، ۰/۰۶ گرم ZVZ (رسوب جدا شده از سانتریفیوژ) به ویال حاوی ۱۰ میلی‌لیتر محلول سدیم نیترات با غلظت ۱۰ میلی‌مولار اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۲ ساعت در دمای ۶۰ درجه سلسیوس هم‌زده و سپس از کاغذ صافی عبور داده شد.

سنجش نیترات با استفاده از حسگر رنگ‌سنجی

پس از کاهش نیترات به نیتريت، غلظت‌های مختلف محلول نیترات کاهش‌یافته به محلول حاوی AuNRs (۰/۲ میلی‌لیتر)، CTAB (غلظت نهایی ۴۰ میلی‌مولار)، بافر Glycine (غلظت نهایی ۵/۰ میلی‌مولار)، تیواوره (غلظت نهایی ۵/۰ میلی‌مولار) با حجم کل ۱/۵ میلی‌لیتر اضافه شدند. پس از ۲۰ دقیقه، طیف‌های جذبی با استفاده از طیف‌سنج فرابنفش - مرئی (Lambda, PerkinElmer, USA) در دمای اتاق ثبت شدند.

آماده‌سازی نمونه‌های شاهی و محلول غذایی

نمونه‌های مربوط به محلول غذایی و گیاه از طریق کشت یک ماهه سبزی شاهی در محیط گلخانه در تیرماه ۱۴۰۱ جمع‌آوری شدند. بذور شاهی به صورت گلدانی در بستر کشت حاوی شن متوسط، پرلیت و خاک اره با نسبت‌های مناسب کشت شدند. این آزمایش در قالب ۴ تیمار شاهد، غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میکرومولار از نیترات پتاسیم و در ۳ تکرار (مجموعاً ۱۲ نمونه) انجام شد. در هفته اول بذور شاهی با استفاده از آب مقطر و محلول غذایی یک چهارم غلظت هوگلند آبیاری شدند. از هفته دوم به صورت یک روز در میان به ترتیب با محلول غذایی کامل هوگلند و تیمارهای نیترات آبیاری شدند. جدول ۱ مشخصات محلول هوگلند شامل نمک‌ها و غلظت‌های استفاده‌شده را نشان می‌دهد. به منظور جمع‌آوری زه‌آب (محلول غذایی)، قبل از برداشت گیاه نسبت‌های مناسبی از آب مقطر و تیمارهای نیترات به گیاه داده شد و بعد از مدت زمان ۲ ساعت مقادیر یکسان از زه‌آب گلدان‌ها جمع‌آوری شد.

جدول ۱- مشخصات محلول هوگلند (Taiz et al, 2015)

ترکیب شیمیایی	غلظت استوک (مولار)	حجم مورد نیاز برای تهیه ۱/۰ لیتر محلول غذایی (میلی‌لیتر)
KH ₂ PO ₄	۱	۲/۰
MgSO ₄ .7H ₂ O	۱	۲/۰
CaCl ₂ .2H ₂ O	۰/۷۳	۲/۰
KNO ₃	۰/۱، ۰/۲، ۰/۴	۲/۰
H ₃ BO ₃	۰/۰۴۵	
MnCl ₂ .4H ₂ O	۰/۰۰۹	
ZnSO ₄ .7H ₂ O	۰/۷×۱۰ ^{-۳}	۲/۰
CuSO ₄ .5H ₂ O	۰/۴×۱۰ ^{-۳}	
FeCl ₃ .6H ₂ O	۰/۰۳	
EDTA	۰/۰۱۷	۲/۰

هضم و عصاره‌گیری نمونه‌های گیاه به صورت بافت تازه و با استفاده از عصاره‌گیر آب-متانول با نسبت حجمی ۱:۱ انجام شد (Salomez & Hofman, 2002). به این صورت که ۱/۰ گرم از نمونه بافت تازه گیاه به قطعات همگن خرد شده و با ۲۰ میلی‌لیتر عصاره‌گیر متانول-آب با نسبت حجمی ۱:۱ مخلوط شد. بعد از ۳۰ دقیقه شیک (۱۵۰ دور در دقیقه) عصاره‌های گیاهی از کاغذ صافی

واتمن عبور و جهت آنالیز نیترات جمع‌آوری شدند. لازم به ذکر می‌باشد که نیترات تمام نمونه‌های حقیقی قبل از ارزیابی توسط حسگر رنگ‌سنجی، با استفاده از کروماتوگرافی یونی تعیین شدند.

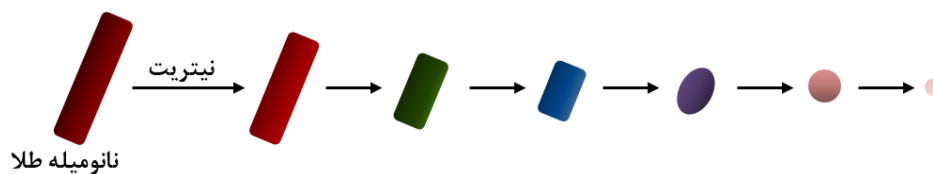
سنجش نیترات در نمونه‌های شاهی و محلول غذایی

برای ارزیابی غلظت نیترات در نمونه‌ها، ۰/۳ میلی‌لیتر محلول سدیم نیترات کاهش‌یافته ۱۰ میلی‌مولار (غلظت نهایی ۲/۰ میلی‌مولار) به ۰/۰۵ میلی‌لیتر از نمونه‌های محلول غذایی و عصاره گیاه اضافه و پس از ۲۰ دقیقه طیف‌های جذبی با استفاده از طیف‌سنج مرئی - فرابنفش ثبت و با توجه به منحنی کالیبراسیون، غلظت نیترات محاسبه شد.

نتایج و بحث

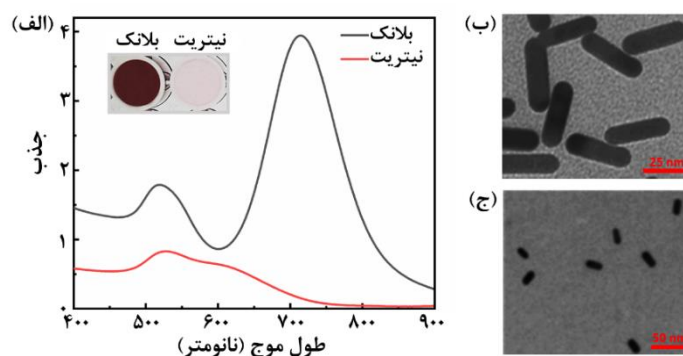
مکانیسم تشخیص

یکی از جالبترین ویژگی‌های نانوذرات فلزی، خواص نوری آنها بوده که متناسب با شکل، اندازه و جنس نانوذرات و محیط پیرامون نانوذره تغییر می‌کند. فلزات با ساختار نانو، خواص نوری بسیار جالب و پیچیده‌های نشان می‌دهند که ناشی از ایجاد یا تحریک پلاسمون‌های سطحی در آنها می‌باشد. در این مطالعه، یک حسگر رنگ‌سنجی بر اساس خوردگی نانوذرات میله‌ای طلا برای تشخیص غیرمستقیم نیترات (پس از کاهش به نیتريت) در دمای اتاق ارائه داده شد. در فرآیند خوردگی، می‌توان یون‌های نیتريت را با تغییر ابعاد نانوذرات پلاسمونی و متعاقباً تولید سیگنال‌های قابل اندازه‌گیری، از جمله تغییرات طیفی و رنگی محلول کلونیدی اندازه‌گیری کرد. اساس این فرآیند اکسیداسیون شیمیایی نانوذرات پلاسمونی با تبدیل آن‌ها از حالت اتمی به حالت یونی است. نیتريت می‌تواند نانوذرات طلا را به دلیل پتانسیل ردوکس بالا اما در درجه حرارت بالا اکسید کند (Chen et al, 2012). انتخاب یک پارامتر تسريع کننده مناسب نقش مهمی در ساخت حسگرهای چندرنگی برای تشخیص سریع نیترات در نمونه‌های واقعی ایفا می‌کند. در مطالعه حاضر، از تیواوره برای تسريع روند خوردگی نانوذرات طلا استفاده شد. تیواوره می‌تواند از طریق گروه‌های تیول خود با یون‌های طلا واکنش دهد و کمپلکس‌های $(Au(CS(NH_2)_2)_2)^+$ را ایجاد کند. بنابراین، با کاهش پتانسیل ردوکس Au^+/Au ، نانوذرات طلا در حضور یون‌های نیتريت در دمای اتاق به یون‌های طلا تبدیل می‌شوند. شکل ۱ شماتیک خوردگی نانوذرات میله‌ای طلا را در حضور نیتريت نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود در طول فرآیند خوردگی نسبت ابعادی نانوذرات میله‌ای طلا کاهش پیدا کرده و متعاقباً تغییرات رنگی محسوس در حسگر اتفاق می‌افتد که با چشم غیرمسلح قابل رؤیت می‌باشد. در این فرآیند نانوذرات طلا به وسیله یون‌های نیتريت اکسید شده و به یون‌های طلا تبدیل می‌شوند. سپس تیواوره با تشکیل کمپلس با کاتیون‌های طلا سرعت خوردگی را تسريع می‌بخشد.



شکل ۱- شماتیک خوردگی نانوذرات میله‌ای طلا در حضور نیتريت

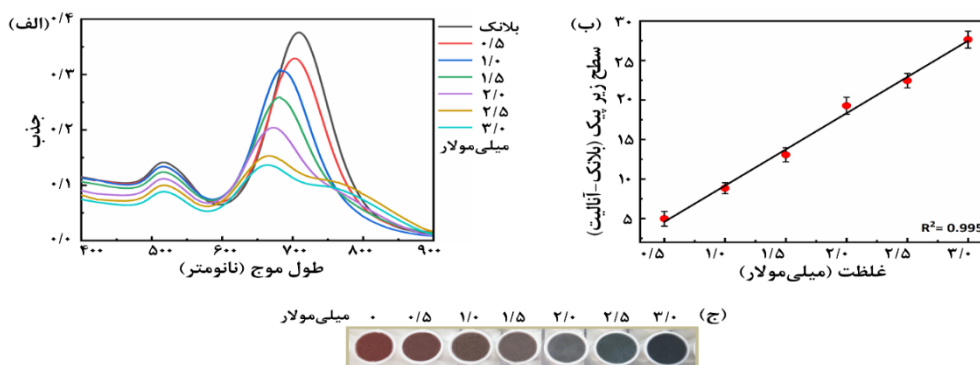
شکل ۲- الف، طیف جذبی AuNRs را قبل از حضور نیتريت شاهد (بلانک) و بعد از خوردگی توسط یون‌های نیتريت نشان می‌دهد. در حالت بلانک پیک‌های پلاسمون عرضی ($TSPR^1$) و طولی ($LSPR^2$) به ترتیب در ۵۲۲ نانومتر و ۷۲۸ نانومتر مشاهده می‌شود. پس از فرآیند خوردگی، با کاهش طول AuNRs، علاوه بر کاهش شدت جذب، پیک طولی به طول موج‌های کوتاه‌تر منتقل می‌شود. متعاقباً تغییر رنگ محسوس در محلول کلونیدی AuNRs رخ داده که برای تشخیص نیتريت با چشم غیرمسلح مفید است. با توجه به همبستگی مستقیم بین پیک LSPR و نسبت ابعاد AuNRs، تصاویر میکروسکوپ الکترونی عبوری (TEM^3 , PHILIPS MC 10 TH) به منظور بررسی اندازه و شکل نانوذرات و تأیید روند خوردگی تهیه شد. همانطور که شکل ۲ ب و ج نشان می‌دهد، نسبت ابعاد AuNRs از ۳/۲ (شکل ۲- ب) به ۲/۰ پس از فرآیند خوردگی در حضور یون‌های نیتريت تغییر می‌کند (شکل ۳- ج).



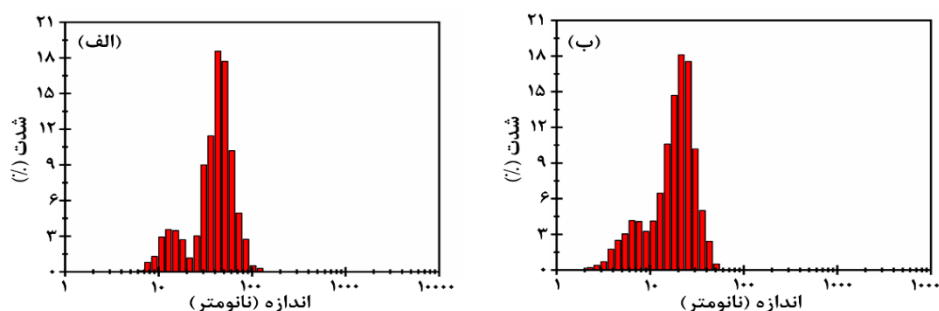
شکل ۲- (الف) طیف‌های جذب‌ی حسگر در حالت بلانک و بعد از قرار گرفتن در معرض غلظت ۱۵۰ میکرومولار یون نیتريت. تصاویر TEM حسگر مبتنی بر AuNRs (ب) در حالت بلانک و (ج) پس از افزودن غلظت ۱۵۰ میکرومولار یون نیتريت.

سنجش نیترات

پاسخ‌های حسگر در حضور غلظت‌های مختلف نیترات احیا شده ثبت شد. با افزایش غلظت نیترات، علاوه بر کاهش شدت جذب، پیک جذب LSPR به طول موج‌های کوتاه‌تر منتقل می‌شود (شکل ۳-الف). با توجه به منحنی کالیبراسیون نشان داده شده در شکل ۳-ب، یک رابطه خطی خوب در محدوده ۰/۵ تا ۳/۰ میلی‌مولار (با ضریب همبستگی ۰/۹۹۵ و معادله $Y = 0.00298 + 9.1638 X$) بین غلظت نیترات کاهش‌یافته و پاسخ حسگر یافت شد. حد تشخیص (LOD) نیز بر اساس فرمول (LOD= 3s/m)، ۱۷۳/۳ میکرومولار محاسبه شد. s انحراف استاندارد نمونه بلانک و m شیب منحنی کالیبراسیون می‌باشد. شکل ۳-ج تصاویر رنگ‌سنجی حسگر ثبت شده توسط دوربین تلفن (Samsung Galaxy J7) را در حضور غلظت‌های مختلف نیترات نشان می‌دهد. با افزایش غلظت نیترات، رنگ قهوه‌ای محلول حسگر به سبز روشن و سپس سبز تیره تبدیل می‌شود. کوچک شدن اندازه نانوذرات در طول فرآیند خوردگی در حضور نیترات کاهش‌یافته نیز با آنالیز تفرق نور پویا (DLS) تأیید شد (شکل ۴).



شکل ۳- (الف) طیف‌های جذب‌ی حسگر در حضور غلظت‌های مختلف نیترات (۰/۵ تا ۳/۰ میلی‌مولار). (ب) رابطه خطی بین پاسخ حسگر و غلظت نیترات. (ج) تصاویر حسگر در حضور غلظت‌های مختلف نیترات کاهش‌یافته.



شکل ۴- شدت توزیع اندازه AuNRs در (الف) حالت بلانک و (ب) حضور نیترات کاهش‌یافته (۲/۰ میلی‌مولار).

در گزارشی، قابلیت روش مبتنی بر نانوذرات کرومی طلا (AuNPs) عامل‌دار شده با معرف‌های گریس را به تشخیص یون نیترات با افزودن یک مرحله کاهش آنزیمی توسعه دادند. برای تسهیل این کاهش، نمونه‌هایی از یون نیترات موجود در آب با نیترات‌ردوکتاز و کوفاکتورهای آن مخلوط و یون‌های نیتريت تولید کردند. همچنین در این روش به منظور افزایش سرعت خوردگی نانوذرات و تسهیل فرآیند تشخیص از دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد استفاده و حد تشخیص نیترات ۱۶۱ میکرومولار گزارش شد (Daniel et al, 2009). در مطالعه‌ای دیگر که توسط مورا و همکاران (۲۰۱۵) صورت گرفت، خواص نانوذرات طلای کرومی عامل‌دار شده با سیستمین در حضور نیترات مورد بررسی قرار گرفت. نانوذرات در حضور نیترات به شکل متقاطع درآمدند و سپس با تجمع و رسوب آن‌ها تغییر رنگ قابل تشخیص با چشم غیرمسلح صورت گرفت. از این حسگر برای تجزیه و تحلیل نمونه‌های آب بهره‌برداری شد. حد تشخیص اندازه‌گیری نیترات در این روش ۳۵ ppm گزارش شد.

سنجش نیترات در نمونه‌های محلول غذایی و بافت شاهی

در جدول ۲ نتایج بازیابی و مقادیر انحراف استاندارد نسبی (RSD) مربوط به اندازه‌گیری غلظت نیترات در نمونه‌های محلول غذایی و بافت شاهی ارائه شده است. مقادیر بازیابی به ترتیب برای محلول غذایی و بافت شاهی در محدوده ۹۴/۴ تا ۱۰۱/۹ و ۹۳/۴ تا ۹۸/۵ درصد و RSD برای همه نمونه‌ها زیر ۲/۱ درصد محاسبه شد. مقادیر بازیابی نیترات نشان می‌دهد که سیستم سنجش قادر خواهد بود با دقت بالایی محتوای نیترات نمونه‌های محلول غذایی و بافت شاهی را تشخیص دهد چرا که مشابهت زیادی بین غلظت نیترات موجود در نمونه (غلظت اولیه + غلظت اضافه شده) و غلظت بدست آمده توسط حسگر مشاهده شد. در ارتباط با تشخیص و اندازه‌گیری نیترات در نمونه‌های گیاه توسط حسگر ارائه شده، اگرچه مانند سایر روش‌ها، یک مرحله عصاره‌گیری لازم است؛ با این حال به مراحل آماده سازی طولانی نیاز ندارد و بنابراین سریعتر از بسیاری از روش‌های سنتی و آزمایشگاهی عمل می‌کند. همچنین مدت زمان احیاء نیترات به نیتريت بسیار کمتر از مقادیر گزارش شده در برخی مطالعات می‌باشد. به عنوان مثال، در مطالعه‌ای کاهش نیترات به نیتريت توسط گرانول‌های کادمیوم روکش شده با مس انجام شد، این روش از زمان آنالیز طولانی (۱۲۰ دقیقه) برای کاهش نیترات رنج می‌برد (Cortas & Wakid, 1990).

جدول ۲- تشخیص نیترات در نمونه‌های محلول غذایی و عصاره گیاه شاهی با استفاده از حسگر مبتنی بر نانوذرات میله‌ای. غلظت اولیه توسط کروماتوگرافی یونی (Metrohm, 850 professional IC, 858 professional sample processor, column: Supp 5, 250 mm, ID= 4.0 mm,) شد. انحراف استاندارد نسبی هر نمونه بر اساس میانگینی از سه اندازه‌گیری (n=3) محاسبه شد.

نمونه	غلظت اولیه (میلی مولار)	غلظت اسپایک شده (میلی مولار)	غلظت بدست آمده (میلی مولار)	بازیابی (درصد)	انحراف استاندارد نسبی (درصد)
محلول غذایی (شاهد)	۰/۰۲۹	۲/۰	۱/۹۳	۹۵/۱	۱/۴۵
محلول غذایی (۲۰۰ میکرومولار)	۰/۰۷۶	۲/۰	۱/۹۶	۹۴/۴	۱/۰۳
محلول غذایی (۴۰۰ میکرومولار)	۰/۱۵	۲/۰	۲/۱۹	۱۰۱/۹	۰/۵
محلول غذایی (۸۰۰ میکرومولار)	۰/۲۱	۲/۰	۲/۲	۹۹/۵	۰/۳۳
عصاره شاهی (شاهد)	۰/۰۶	۲/۰	۲/۰۳	۹۸/۵	۱/۴۸
عصاره شاهی (۲۰۰ میکرومولار)	۰/۱۲	۲/۰	۲/۰۱	۹۴/۸	۰/۵
عصاره شاهی (۴۰۰ میکرومولار)	۰/۱۹	۲/۰	۲/۱۱	۹۶/۳	۲/۰۷
عصاره شاهی (۸۰۰ میکرومولار)	۰/۲۹	۲/۰	۲/۱۴	۹۳/۴	۱/۲

نتیجه‌گیری

در این مطالعه، یک حسگر رنگ‌سنجی بر اساس خوردگی نانوذرات میله‌ای طلا برای تشخیص غیرمستقیم نیترات در دمای اتاق و بدون استفاده از فرآیند زمان‌بر و پرهزینه برجسب‌گذاری (عامل‌دار کردن) نانوذرات ارائه داده شد. اندازه‌گیری یون‌های نیترات بر اساس تغییرات در اندازه نانو ذرات پلاسمونی و متعاقباً تولید سیگنال‌های قابل اندازه‌گیری، از جمله تغییرات طیفی و رنگی امکان‌پذیر شد. همچنین یک رابطه خطی خوب بین غلظت نیترات و پاسخ رنگ‌سنجی در محدوده ۰/۵ تا ۳/۰ میلی مولار و با حد تشخیص به میزان ۱۷۳/۳ میکرومولار یافت شد. ارزیابی این حسگر با استفاده از نمونه‌های حقیقی نیز توانایی آن را برای اندازه‌گیری غلظت نیترات با دقت و حساسیت بالا در

همه نمونه‌های آزمایش شده نشان داد. مقادیر بازیابی برای همه نمونه‌ها در محدوده ۹۳/۴ تا ۱۰۱/۹ درصد و RSD زیر ۲/۱ درصد محاسبه شد. ما بر این باوریم که این تکنیک نوآورانه می‌تواند داده‌های قابل اطمینانی در رابطه با غلظت نیترات در بافت گیاه و زه‌آب خروجی در مزارع و گلخانه‌ها برای محصولات در حال رشد به کشاورزان ارائه دهد. این روش سنجش نه تنها قابلیت‌های خود را برای ارائه نتایج دقیق و با حساسیت بالا نشان می‌دهد، بلکه می‌تواند با کسری از هزینه‌ها از جمله محدود کردن غلظت مواد و گونه‌های شیمیایی (کاهش ضایعات شیمیایی)، کاهش تعداد نیروی کار و استفاده از ابزار تشخیص ساده و در دسترس از نظر اقتصادی مقرون به صرفه باشد. در نهایت، روش جدید پیشنهادی می‌تواند به عنوان یک روش مناسب و قابل رقابت با سایر روش‌ها از جمله حسگرهای نانوپلاسمونی و روش‌های آزمایشگاهی اندازه‌گیری نیتريت/ نیترات، معرفی و به کار گرفته شود. بر این اساس، گسترش رویکردهایی به منظور تشخیص نیترات به صورت مستقیم بسیار مطلوب است. اصلاح ساختارهای نانو با عوامل احیاءکننده ممکن است یک روش آینده‌نگر در تشخیص مستقیم نیترات باشد که امکان کاهش و شناسایی همزمان را فراهم می‌کند.

"هیچ‌گونه تعارض منافع بین نویسندگان وجود ندارد"

منابع

- Ahluwalia, A., Gladwin, M., Coleman, G. D., Hord, N., Howard, G., Kim-Shapiro, D. B., & Harman, J. L. (2016). Dietary nitrate and the epidemiology of cardiovascular disease: report from a National Heart, Lung, and Blood Institute Workshop. *Journal of the American Heart Association*, 5(7), e003402.
- Alahi, M. E. E., & Mukhopadhyay, S. C. (2018). Detection methods of nitrate in water: A review. *Sensors and Actuators A: Physical*, 280, 210-221.
- Bahadoran, Z., Mirmiran, P., Jeddi, S., Azizi, F., Ghasemi, A., & Hadaegh, F. (2016). Nitrate and nitrite content of vegetables, fruits, grains, legumes, dairy products, meats and processed meats. *Journal of Food Composition and Analysis*, 51, 93-105.
- Bao, Z., Hu, Q., Qi, W., Tang, Y., Wang, W., Wan, P., Chao, J. & Yang, X.J. (2017) Nitrate reduction in water by aluminum alloys particles. *Journal of Environmental Management*, 196: 666-673.
- Bondonno, C. P., Blekkenhorst, L. C., Liu, A. H., Bondonno, N. P., Ward, N. C., Croft, K. D., & Hodgson, J. M. (2018). Vegetable-derived bioactive nitrate and cardiovascular health. *Molecular Aspects of Medicine*, 61, 83-91.
- Chen, Z., Zhang, Z., Qu, C., Pan, D., & Chen, L. (2012). Highly sensitive label-free colorimetric sensing of nitrite based on etching of gold nanorods. *Analyst*, 137(22), 5197-5200.
- Chiu, Y. T., Lin, C. H., Lee, J., & Lin, K. Y. A. (2020). Reduction of nitrate to nitrite in water by acid-washed zero-valent zinc. *Separation Science and Technology*, 55(4), 761-770.
- Cortas, N. K., & Wakid, N. W. (1990). Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clinical Chemistry*, 36(8), 1440-1443.
- Daniel, W. L., Han, M. S., Lee, J. S., & Mirkin, C. A. (2009). Colorimetric nitrite and nitrate detection with gold nanoparticle probes and kinetic end points. *Journal of the American Chemical Society*, 131(18), 6362-6363.
- Greer, F. R., Shannon, M., Committee on Nutrition, & Committee on Environmental Health. (2005). Infant methemoglobinemia: the role of dietary nitrate in food and water. *Pediatrics*, 116(3), 784-786.
- Honikel, K. O. (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, 78(1-2), 68-76.
- Hooda, V., Sachdeva, V., & Chauhan, N. (2016). Nitrate quantification: recent insights into enzyme-based methods. *Reviews in Analytical Chemistry*, 35(3), 99-114.
- Hord, N. G., Tang, Y., & Bryan, N. S. (2009). Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90(1), 1-10.
- Hyde, E. R., Andrade, F., Vaksman, Z., Parthasarathy, K., Jiang, H., Parthasarathy, D. K., & Bryan, N. S. (2014). Metagenomic analysis of nitrate-reducing bacteria in the oral cavity: implications for nitric oxide homeostasis. *PLoS One*, 9(3), e88645.
- Kelly, K.L., Coronado, E., Zhao, L. L., & Schatz, G. C. (2003). The optical properties of metal nanoparticles: the influence of size, shape and dielectric environment. *The Journal of Physical Chemistry B*, 107(3), 668-677.



- Kumar, M., & Chakraborty, S. (2006). Chemical denitrification of water by zero-valent magnesium powder. *Journal of Hazardous Materials*, 135(1-3), 112-121.
- Kumar, V. V., & Anthony, S. P. (2014). Highly selective silver nanoparticles based label free colorimetric sensor for nitrite anions. *Analytica Chimica Acta*, 842, 57-62.
- Lundberg, J. O., Feelisch, M., Björne, H., Jansson, E. Å., & Weitzberg, E. (2006). Cardioprotective effects of vegetables: is nitrate the answer? *Nitric Oxide*, 15(4), 359-362.
- Manassaram, D. M., Backer, L. C., Messing, R., Fleming, L. E., Luke, B., & Monteilh, C. P. (2010). Nitrates in drinking water and methemoglobin levels in pregnancy: a longitudinal study. *Environmental Health*, 9(1), 1-12.
- Michalski, R., & Kurzyca, I. (2006). Determination of Nitrogen Species (Nitrate, Nitrite and Ammonia Ions) in Environmental Samples by Ion Chromatography. *Polish Journal of Environmental Studies*, 15(1).
- Mura, S., Greppi, G., Roggero, P. P., Musu, E., Pittalis, D., Carletti, A., ... & Irudayaraj, J. (2015). Functionalized gold nanoparticles for the detection of nitrates in water. *International journal of environmental science and technology*, 12, 1021-1028.
- Provin, T., & Hossner, L. R. (2001). What Happens to Nitrogen in Soils? Texas FARMER Collection.
- Sachdeva, V., & Hooda, V. (2014). A new immobilization and sensing platform for nitrate quantification. *Talanta*, 124, 52-59.
- Salomez, J., & Hofman, G. (2002). Nitrate extraction from fresh plant material by means of a methanol: water extraction solution. *Communications in soil science and plant analysis*, 33(15-18), 3397-3404.
- Santamaria, P. (2006). Nitrate in vegetables: toxicity, content, intake and EC regulation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(1), 10-17.
- Sorte, K., & Basak, A. (2010). Development of a modified copper-cadmium reduction method for rapid assay of total nitric oxide. *Analytical Methods*, 2(7), 944-947.
- Speijers, G. & Van den Brandt, P. (2003). Nitrite and potential endogenous formation of N-nitroso compounds; safety evaluation of certain food additives, *JECFA, WHO Food Additives Series*, 50, 49-74.
- Suzuki, H., Iijima, K., Moriya, A., McElroy, K., Scobie, G., Fyfe, V., & McColl, K. E. L. (2003). Conditions for acid catalysed luminal nitrosation are maximal at the gastric cardia. *Gut*, 52(8), 1095-1101.
- Suzuki, T., Moribe, M., Oyama, Y. & Niinae, M. (2012) Mechanism of nitrate reduction by zero-valent iron: equilibrium and kinetics studies. *Chemical Engineering Journal*, 183: 271-277.
- Taiz, L., Zeiger, E., Møller, I. M., & Murphy, A. (2015). *Plant physiology and development* (No. Ed. 6). Sinauer Associates Incorporated.
- Tannenbaum, S. R., & Walstra, P. (2000). *Handbook of Water Analysis*, Edit. Nollet LM, M, in Dekker, New York.
- Titov, V. Y., & Petrenko, Y. M. (2005). Proposed mechanism of nitrite-induced methemoglobinemia. *Biochemistry (Moscow)*, 70(4), 473-483.
- Tratnyek, P. G., Salter, A. J., Nurmi, J. T., & Sarathy, V. (2010). Environmental applications of zerovalent metals: iron vs. zinc. In *Nanoscale Materials in Chemistry: Environmental Applications* (pp. 165-178). American Chemical Society.
- Uddin, R., Thakur, M. U., Uddin, M. Z., & Islam, G. R. (2021). Study of nitrate levels in fruits and vegetables to assess the potential health risks in Bangladesh. *Scientific Reports*, 11(1), 1-9.
- Wang, S., Lin, K., Chen, N., Yuan, D., & Ma, J. (2016). Automated determination of nitrate plus nitrite in aqueous samples with flow injection analysis using vanadium (III) chloride as reductant. *Talanta*, 146, 744-748.
- Wang, Q. H., Yu, L. J., Liu, Y., Lin, L., Lu, R. G., Zhu, J. P., & Lu, Z. L. (2017). Methods for the detection and determination of nitrite and nitrate: A review. *Talanta*, 165, 709-720.
- Ward, M. H., DeKok, T. M., Levallois, P., Brender, J., Gulis, G., Nolan, B. T., & VanDerslice, J. (2005). Workgroup report: drinking-water nitrate and health—recent findings and research needs. *Environmental Health Perspectives*, 113(11), 1607-1614.
- World Health Organization. (2011). Nitrate and nitrite in drinking-water: background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality, No. WHO/SDE/WSH/07.01/16
- World Health Organization. (2016). Nitrate and nitrite in drinking-water.
- Zhang, J., Yang, C., Wang, X., & Yang, X. (2012). Colorimetric recognition and sensing of nitrite with unmodified gold nanoparticles based on a specific diazo reaction with phenylenediamine. *Analyst*, 137(14), 3286-3292.

Nitrate concentration Measurement in Cress Plant Using a Colorimetric Sensor based on Gold nanoparticles

EXTENDED ABSTRACT

Introduction:

The presence of nitrate in environmental matrices, especially the water-soil-plant system, has raised concerns in the scientific community due to its negative effects on the environment and the health of living organisms. Due to the necessity of regular and rapid evaluation of nitrate, the development of methods with the ability to detect accurate and insitu of this compound is very important. In general, traditional and laboratory methods, despite their high sensitivity, are not very satisfactory due to problems such as time consuming, expensive, inability to measure quickly and the production of chemical waste. Today, colorimetric methods have received much attention due to their ability to detect visually and in situ. Accordingly, in this study, a colorimetric method based on etching of gold nanoparticles with rod shapes for qualitative and quantitative detection of nitrate was presented.

Materials and Methods:

This study was carried out in 2022 at the agricultural biotechnology research institute and the University of Tehran, soil science department. Unlike other studies, in this method, instead of temperature, thiourea was used as a sulfur-containing compound to accelerate the etching process of gold nanoparticles. Thiourea accelerates the etching process by forming a complex with gold ions and thus reducing the oxidation potential of Au^+ / Au . Therefore, the measurement of nitrite ions at room temperature is possible by changing the size of the plasmon nanoparticles and subsequently generating measurable signals, including spectral and color changes. In addition to nitrite, the developed method is able to determine nitrate indirectly (after reduction of nitrate to nitrite by zinc powder).

Results and Discussion:

Under optimal conditions, a good linear relationship between nitrate concentration and colorimetric response in the range of 0.5 to 3 mM ($R^2=0.995$) with a detection limit of 173.3 μ M was found. Also, considering that vegetables, especially leafy vegetables, have a high potential in nitrate absorption, in this research cress plant was used as an indicator plant to investigate the efficiency of the sensor in determining the nitrate of leafy plants. Recovery values for nutrient solution and cress tissue samples were in the range of 94.4 to 101.9 and 93.4 to 98.5%, respectively, and relative standard deviation (RSD) for all samples was calculated below 2.1%. These results show that the proposed measurement system will be able to accurate detection of nitrate content in real samples because a great similarity was observed between the nitrate concentration in the sample (initial concentration + spiked concentration) and the concentration obtained by the sensor.

Conclusion:

Evaluation of this sensor using samples of food solution and cress plant shows its ability to measure nitrate concentration with high accuracy and sensitivity in all tested samples. As a result, the method presented in this research makes it possible to measure and monitor the actual level of nitrate in environmental and food samples and can provide valuable data about the amount of these compound in complex matrices.

Keywords: Colorimetric Detection, Cress Plant, Gold Nanorods, Nitrate.