لیزر در پزشکی ۱۴۰۱/ دوره ۱۹ / شماره (۱) / صفحات ۴۳-۳۳.

مقاله پژوهشی

پوشش‌دهی نانوذرات نقره به روش اسپاترینگ (کندوپاش) برروی بسترهای شیشه‌ای به عنوان حسگر زیستی رامان بهبودیافته سطحی (SERS) در جهت شناسایی پروتئین وی (Whey protein)

راضیه مرعشی‌پور[1]
عباس شیرمردی[2*]

چکیده

مقـدمه: پروتئین وی نیز یکی از پرمصرف‌ترین مواد پروتئینی کلوئیدی در صنایع غذایی، دارویی و پزشکی است و یک مکمل غذایی محبوب برای بهبود قدرت عضلانی بدن و جهت پیشگیری از انواع بیماری‌های قلبی، دیابت و پوکی استخوان مصرف می‌شود. پراکندگی رامان بهبودیافته سطحی (SERS) یکی از ابزارهای تحلیلی بسیار حساسِ شناخته‌شده درحال‌حاضر است؛ در برخی موارد، می‌توان طیف SERS با کیفیت بالا که حتی یک تک مولکول در آن سهیم است را ثبت کرد. که در این مقاله، برای شناسایی پروتئین وی از بسترهای پلاسمونیکی نقره که سیگنال رامان را افزایش داده‌اند؛ استفاده شده است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، به هدف ساخت حسگر زیستی SERS، نانوذرات نقره به روش اسپاترینگ (کندوپاش) بروی شیشه لایه‌نشانی شدند و با استفاده از طیف‌سنجی رامان که تکنیکی غیرمخرب است، آشکارسازی پروتئین وی انجام شد.

یافته‌ها: مشاهده ساختار FCC در مشخصه‌یابی XRD آن، تشکیل نانوذرات نقره را تایید کرد. قله پلاسمونی طیف خاموشی بسترهای پلاسمونیکی نقره حدود ۴۳۹ نانومتر مشاهده شد. تصویر میکروسکوپ الکترونی گسیل میدانی (FE-SEM) بسترهای پلاسمونیکی نقره نشان می‌دهد که تعداد زیادی از ذرات نقره اندازه بین ۲۰ تا ۴۰ نانومتر دارند. زبری بسترهای پلاسمونیکی که حاصل از یکنواخت‌نبودن پوشش نقره است منجربه پراکندگی نور از نقاط مشاهده‌شده در تصویر میکروسکوپ الکترونی می‌شود. زبری که برای بسترهای پلاسمونیکی در تصویر میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) مشاهده می‌شود به پراکندگی نور از نقاط زبر کمک می‌کند. با حکاکی مولکول پروتئین وی روی بسترهای پلاسمونیکی، ارتعاشات مولکولی آن شناسایی شدند. در ادامه نمودار کالیبراسیون غلظت‌های مختلف پروتئین وی، اندازه‌گیری شد.

نتیجه‌گیری: طیف‌سنجی رامان روشی مهم جهت شناسایی مولکول‌ها است که کاربرد زیادی در تعیین ویژگی‌های شیمیایی و ساختاری مواد مختلف دارد. بسیاری از مواد دارای طیف رامان ویژه‌ای می‌باشند به‌طوری‌که این پدیده دستگاه رامان را به ابزار کارآمدی برای مطالعه ویژگی‌های ساختاری و شیمیایی مولکول‌ها تبدیل نموده است. با استفاده از این بسترهای پلاسمونیکی نقره و پدیده SERS شناسایی، آشکارسازی سریع و راحت پروتئین وی تا غلظت ۷-۱۰ مولار قابل انجام است. درضمن، با کالیبراسیون، استفاده از بسترهای پلاسمونیکی نقره، و طیف‌سنجی رامان، می‌وان غلظت پروتئین وی، را به‌دست آورد.

واژه‌های کلیدی: پروتئین وی، روش اسپاترینگ (کندوپاش)، بسترهای پلاسمونیکی نقره، حسگر زیستی طیف‌سنجی رامان بهبودیافته سطحی (SERS).

۱- فارغ‌التحصیل، کارشناسی ارشد، دانشکده مهندسی، گروه مهندسی شیمی، دانشگاه کاشان ۸۷۳۱۷۵۳۱۵۳ کاشان، ایران
۲- استادیار، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد مسجدسلیمان، ۰۶۱۴۳۲۶۰۰۹۳، مسجد سلیمان، ایران

نویسندهٔ مسئول: عباس شیرمردی

پست الکترونیکی:
ashirmardi.abbas@gmail.com

شماره تماس: ۰۶۱۴۳۲۶۰۰۹۳

[Downloaded from icml.ir on 2026-10-31]

مقـدمه

پروتئین وی (Whey protein)، بخشی از پروتئین شیر محسوب می‌شود .این پروتئین شامل غلظت زیادی از اسیدآمینه‌های ضروری به‌ویژه لوسین است [۱]. این پروتئین باعث افزایش سیستم ایمنی بدن می‌شود [۳،۲]. گفته شده است پروتئین وی می‌تواند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان، ضدفشارخون، ضدتومور، کاهش‌دهنده چربی خون، ضدویروس و ضدباکتری عمل کند [۵،۴]. پروتئین وی یک منبع غنی از کلسیم و دیگر مواد معدنی است [۶]. محصولات گوناگون‌پروتئین‌وی‌ازنظرمقدارپروتئین،کربوهیدرات،ایمنوگلوبولین، لاکتوز، مواد معدنی و چربی تفاوت دارند .این متغیرها در انتخاب محصولات مختلف پروتئین وی برای کاربردهای تغذیه‌ای ویژه مهم هستند [۳]. پروتئین وی، منبع پروتئینی با کیفیت بالا و مکمل رایج در جامعه ورزشی است [۷]. پروتئین وی و مکمل‌های اسیدآمینه به دلیل کیفیت ساخت پروتئین و اسیدآمینه در محصولات یکی از پرمصرف‌ترین مواد پروتئینی کلوئیدی در صنایع غذایی، دارویی و پزشکی است و یک مکمل غذایی محبوب برای بهبود قدرت عضلانی بدن و جهت پیشگیری از انواع بیماری‌های قلبی، دیابت و پوکی استخوان مصرف می‌شود و نیز موقعیت خوبی در بازار تغذیه ورزش دارد. درحال‌حاضر، برای تعیین مقدار پروتئین وی روش‌های متعددی مانند کروماتوگرافی گازی[1] و اسپکترومتری جرم[2] [۸، ۹]، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا [(HPLC[3])۱۰] و طیف‌سنجی تبدیل فوریه رامان ([FT-Raman[4])۱۱، ۱۲، ۱۳] به‌کار برده می‌شود. این روش‌ها، روش‌هایی مخرب، دشوار، آلاینده، درون آزمایشگاهی، و نیازمند آماده‌سازی نمونه، نیروی متخصص آموزش‌دیده، آزمایشگاه‌های مجهز و صرف وقت و هزینه بسیار هستند. از این‌رو، توسعه یک روش غیرمخرب، با کاربری ساده، سریع، کم‌هزینه، ناآلاینده، با قابلیت حمل و کاربرد خارج از محیط آزمایشگاه و نیاز به آماده‌سازی کمتر نمونه بسیار ضروری است. از طرفی شناسایی و تشخیص مقادیر بسیار اندک از پروتئین وی نیز مورد توجه است. با استفاده از طیف‌سنجی زیرقرمز و طیف‌سنجی رامان که هر دو طیف‌سنجی اثرانگشتی محسوب می‌شوند و ارتعاش‌های مولکولی ماده را بررسی می‌کنند؛ می‌توان مواد و آنالیت‌های بیولوژیکی را شناسایی کرد [۱۴، ۱۵]. در طیف‌سنجی زیر قرمز به‌دلیل فعال‌بودن ارتعاش‌های مولکولی آب، شناسایی گونه‌های زیستی دشوار است و حساسیت آشکارسازهای آن نیز پایین است. در طیف‌سنجی رامان نیز به دلیل ضعیف بودن ذاتی سیگنال حاصل از پراکندگی رامان، مطالعه مولکول‌ها با غلظت‌های اندک، عملاً امکان‌پذیر نیست [۱۶]. یکی از روش‌هایی که می‌توان سیگنال رامان را بهبود داد استفاده از نانوساختارهای فلزی است که به‌دلیل تشدید پلاسمون‌های سطحی می‌توانند میدان الکتریکی قوی را در نزدیک نانوساختارها ایجاد کنند یا با افزایش میزان پراکندگی نور از این نانوساختارها، سیگنال پراکندگی را به‌طور موثر بهبود می‌دهند که به‌دنبال آن ارتعاش‌های مولکولی با سیگنال بهتر و بیشتری مشاهده خواهند شد. این روش طیف‌سنجی رامان بهبودیافته سطحی (SERS) نام دارد که یک روش حساس و انتخابی است که نتیجه آن بهبود پراکندگی رامان مولکول‌هایی است که بر روی ساختارهای فلزی جذب سطحی شده‌اند [۱۷]. در حسگر تشدید پلاسمون سطحی (SPR[5])، پلاریتون‌های پلاسمون سطحی، در سطح مشترک یک فیلم نازک فلزی مانند طلا، نقره و یک دی‌الکتریک، برانگیخته می‌شوند .ازجمله عواملی که بر نوسان پلاسمون سطحی نانوذرات طلا یا نانوذرات نقره اثرگذار ضریب شکست محیطی است که نانوذره در آن قرار دارد .تغییر ضریب شکست نانوذره، ثابت انتشار پلاسمون‌های سطحی را تغییرداده و باعث تغییراتی در جفت‌شدگی بین نور و پلاسمون سطحی می‌شود، که به صورت مشخصه‌های نوری در خروجی قابل مشاهده است [۱۸ و ۱۹]. از این خاصیت برای ساخت بسیاری از حسگرها در پزشکی و صنعت استفاده می‌شود. اولین حسگر SPR با حساسیت بسیار بالا در سال ۱۹۹۹ توسط هومولا و همکارانش [۲۰]بدون

[1] Gas Chromatography
[2] Mass Spectroscopy
[3] High-performance Liquid Chromatography (HPLC)
[4] Fourier transform Raman methods (FT-Raman)
[5] Surface Plasmon Resonance (SPR)

[Downloaded from icml.ir on 2026-10-31]

استفاده از برچسب مولکولی ایجاد شد. بعداز آن حسگرهای زیستی SPR کاربرد گسترده‌ای در تجزیه و تحلیل برهم‌کنش‌های بیومولکولی و آشکارسازی آنالیت‌های شیمیایی و بیولوژیکی پیدا کردند [۲۱- ۲۳]. با پیشرفت صنعت، علاقه‌مندی ساخت حسگرها به سمت حسگرهایی متمایل شد که قادر بودند پاسخ‌های حسگری مشخص (ناشی از مولکول‌های آنالیت هدفمندشده) را از پاسخ‌های نامشخص، ناشی ازنوسانات دما، ترکیب آنالیت‌ها و جذب مولکول‌های غیرهدفمند توسط سطح حسگر تشخیص دهند [۲۵-۲۴]. در سال‌های بعد ایجاد حسگرهای چندکاناله برای اندازه‌گیری همزمان آنالیت‌های متفاوت، تحت بررسی قرارگرفت. ازجمله این حسگرها، منشور جفت‌شده با ساختار SPR بود[۲۶]. SERS، بالغ‌بر پیشرفت سریع در چهار دهه گذشته و به‌عنوان کاربردهایی جهت تشخیص در زمینه‌های شیمی، علوم مواد، بیوشیمی و علوم زیستی به‌سرعت درحال گسترش هستند. پیشرفت در ساخت حسگرهای زیستی مبتنی بر SERS، تحول عظیمی در تشخیص آنالیت‌های بیولوژیکی و مواد شیمیایی محسوب می‌شود [۲۷]. درواقع با تابش نور (لیزر) به سطح ناصاف فلزی، در اثر تشدید پلاسمون‌های سطحی نانوساختارهای فلزی به‌وسیله میدان الکترومغناطیسی لیزر، میدان‌های الکتریکی بهبودیافته در اطراف فلز ایجاد می‌شود [۲۹-۲۸]، گویی میدان الکتریکی حاصل از تابش نور لیزر تقویت شده است. بنابراین، مولکولی که در این میدان الکتریکی بهبودیافته قرار می‌گیرد؛ بیشتر قطبیده می‌شود و درنتیجه سیگنال رامان آن بهبود می‌یابد [۳۰]. در این روش، هنگامی که آنالیت‌های مورد مطالعه در نزدیک سطح فلز قرار می‌گیرند یا به‌طور فیزیکی جذب نانوذرات فلزی می‌شوند، به علت برهم‌کنش آنالیت‌ها و پلاسمون‌های سطحی فلز، شدت سیگنال رامان افزایش می‌یابد و بدین ترتیب SERS می‌تواند برای تشخیص سریع و دقیق آنالیت‌های میکروبیولوژیکی استفاده شود. در این مطالعه به هدف طراحی و ساخت حسگر ساده با سرعت تشخیص بالا، حساسیت، گزینش‌پذیری، تکرارپذیری و عدم‌نیاز به تجهیزات پیچیده، نانوذرات نقره با استفاده از روش اسپاترینگ (کندوپاش) بر روی زیرلایه شیشه‌ای قرار گرفتند تا بستر پلاسمونیکی نقره برای تشخیص و تعیین غیرمخرب پروتئین وی در غلظت‌های مختلف استفاده شود.

مواد و روش‌ها

۱. روش‌های ساخت و شناسایی

برای ساخت این بستر پلاسمونیکی نقره، لایه‌های نازکی از نقره برروی سطوح لام شیشه‌ای (با ضریب شکست ۱/۵) به روش اسپاترینگ (کندوپاش) لایه‌نشانی شدند. ابتدا، قطعات شیشه‌ای با ابعاد۱ cm×۲ cm پس از شستشو با شوینده و آب، با استون شستشو داده شدند که هم‌زمان از امواج فراصوت نیز استفاده شد. پس از خشک‌شدن این قطعات شیشه‌ای، در دمای $400^{o}C$ به مدت۳۰ دقیقه در کوره حرارت‌دهی داده شدند تا آلودگی‌های آلی نیز از سطح شیشه حذف شوند. سپس زیرلایه شیشه‌ای در دستگاه DC magnetron sputtering تخت در زمان تعیین شده ۶۰ ثانیه روی دستگاه لایه‌نشانی شدند. دستگاه اسپاترینگ به‌وسیله دو پمپ روتاری و توربو به خلاء لازم رسید. در این آزمایش تارگت نقره و گاز حامل آرگون است. تمام نمونه‌ها در فشار اولیه از مرتبه 10^{-5} و فشار کاری (با ورود گاز آرگون) ۰/۰۵ تور لایه‌نشانی شد. مدت زمان فرآیند لایه‌نشانی برای این پژوهش ۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد [۳۱]. پس از آماده‌شدن زیرلایه‌های پوشش داده‌شده با نانوذرات نقره به روش اسپاترینگ بسترهای پلاسمونیکی نقره به عنوان حسگر زیستی تهیه‌شد و سپس به‌عنوان بستر پلاسمونیکی برای تشخیص و تعیین غیرمخرب پروتئین وی در غلظت‌های مختلف استفاده شدند. برای آشکارسازی مولکول پروتئین وی، ابتدا غلظت M ۰/۱ از آن با حلال آب بدون یون (DI) ساخته شد و غلظت‌های 10^{-2}، 10^{-3}، 10^{-4}، 10^{-5}، 10^{-6} و 10^{-7} مولار آنها تهیه شد. در ادامه، ۱۰ میکرولیتر از هرکدام از غلظت‌های تهیه‌شده به‌صورت جداگانه و به روش قطره‌افشان بر روی بستر پلاسمونیکی نقره به‌طور مجزا قرارگرفت و پس‌از خشک‌شدن، طیف رامان پروتئین وی قرار داده شده روی شیشه و طیف SERS پروتئین وی قرار داده‌شده روی بستر پلاسمونیکی نقره اندازه‌گیری شد.

[Downloaded from icml.ir on 2026-10-31]

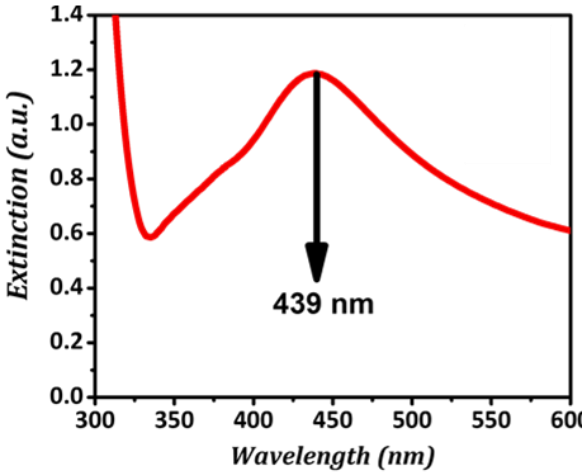
۲-۱. مشخصه‌یابی

دستگاه طیف‌سنجی UV-Vis و الگوی پراش پرتو X، بستر پلاسمونیکی نقره به‌ترتیب به‌وسیله دستگاه Perkin-Elmer مدلLambda25 و دستگاه X Pert -Pro ساخت شرکت Panalytical کشور هلند، با پرتو تک‌فام Cu Kα با طول موج ۰/۱۵۴ نانومتر، جریان ۴۰ میلی‌آمپر و با ولتاژ ۴۰ کیلوولت در دمای اتاق انجام شد. تصاویر میکروسکوپ الکترونی گسیل میدانی (FE-SEM) به‌وسیله دستگاهHitachi مدل S4160 و تصویر میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM) نمونه‌ها نیز با استفاده از دستگاه شرکت نانو سیستم پارس ساخت ایران بررسی شد. دستگاه طیف‌سنجی رامان Takram مدل P50C0R10 ساخت شرکت تکسان با تابش نور لیزر Nd: YAG، با طول موج ۵۳۲ نانومتر و توان خروجی قابل تنظیم ۷۵ میلی‌وات برای اندازه‌گیری طیف رامان و طیف SERS نمونه‌ها استفاده شد.

نتایج و بحث

۱. طیف خاموشی بستر پلاسمونیکی نقره

شکل-۱، طیف خاموشی بستر پلاسمونیکی نقره نانوذرات نقره پوشش داده شده بر روی بستر شیشه‌ای حسگر پلاسمونیکی زیستی SERSرا نشان می‌دهد. ظاهر شدن قله تشدید پلاسمونی در ۴۳۹ نانومتر، تشکیل نانوذرات نقره روی بستر شیشه‌ای را تائید می‌کند [۳۲]. با تغییر محیط در بردارنده این ذرات که از آب به شیشه و هوا تغییر می‌کند؛ جابه‌جایی در طول موج قله پلاسمونی رخ می‌دهد و ارتفاع آن کاهش و پهنای قله‌ها نیز افزایش می‌یابد به این دلیل که موقعیت قله پلاسمونی به ضریب شکست محیط دربردارنده آنها وابسته است [۳۳]، با توجه به شکل-۱، بر خلاف محلول کلوئیدی پایدار که نانوذرات نقره در داخل محلول آبی پراکنده هستند و به فاصله‌های مشخصی از یکدیگر قرار دارند؛ با قرار گرفتن نانوذرات نقره روی بستر شیشه‌ای، حین خشک‌شدن، ذرات در مجاورت یکدیگر قرار می‌گیرند و کلوخه‌هایی متشکل از چندین نانوذره روی بستر شکل می‌گیرد به‌گونه‌ای‌که می‌توان این کلوخه‌ها را ذرات بزرگتری درنظر گرفت که منجربه افزایش پهنای طیف می‌شود[۳۳]، کاهش شدت قله نیز ناشی از پراکندگی نور از ذرات کلوخه شده است[۳۳]، این که زمینه طیف خاموشی (طیف جذب + طیف پراکندگی) بستر فعال در SERS، در مقایسه با طیف جذب در مقادیر بالاتری رخ داده است ناشی از بازتاب و پراکندگی نور از سطح شیشه است.

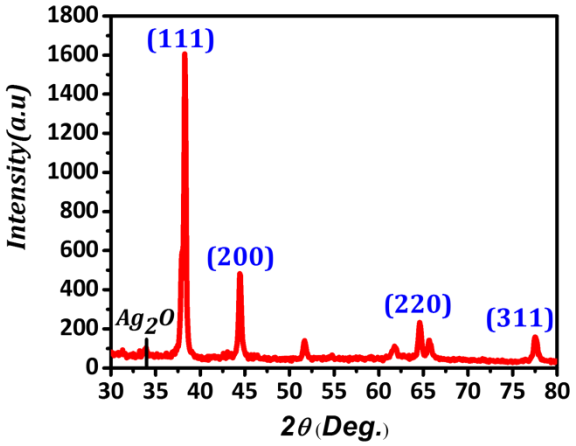


شکل۱: طیف خاموشی بستر پلاسمونیکی نقره با بیشینه جذب در طول‌موج ٤٣٩ نانومتر.

۲. طیف الگوی XRD ، بستر پلاسمونیکی نقره

شکل-۲ الگوی پراش اشعه ایکس بستر پلاسمونیکی نقره است که با مشاهده بزرگترین و اصلی‌ترین قله‌ها در زاویه‌ی 2θ برابر با ۳۸/۲۱، ۴۴/۵۰، ۶۴/۶۴ و ۷۷/۵۳ درجه که به ترتیب مربوط به صفحات بلوری (۱۱۱)، (۲۰۰) ، (۲۲۰) و (۳۱۱) است؛ ساختار FCC نقره را تایید می‌کند. (قله ظاهرشده در زاویه‌ی 2θ برابر با ۳۴/۰۴ درجه نقره اکسید است که به‌دلیل شرایط محیطی آزمایشگاه ظاهر شده است).

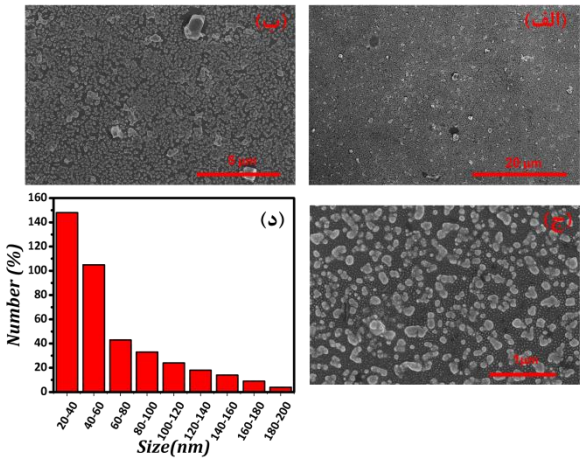
[Downloaded from icml.ir on 2026-10-31]



شکل ۲: الگوی پراش اشعه ایکس بستر پلاسمونیکی نقره.

۳. تصاویر FE-SEM نانوذرات نقره پوشش داده‌شده بر روی بستر شیشه‌ای و توزیع اندازه نانوحسگرهای زیستی SERS

تصاویر FE-SEM، شکل ۳- (الف)، شکل ۳- (ب) و شکل ۳- (ج) به‌ترتیب مربوط به بسترهای پلاسمونیکی نقره لایه‌نشانی‌شده به روش اسپاترینگ در اسکیل بار ۲۰ میکرومتر، اسکیل بار ۵ میکرومتر و اسکیل بار ۱ میکرومتر، نشان می‌دهد. در نمونه شکل ۳- (الف)، شکل ۳- (ب) و شکل ۳- (ج) سطح بستر شیشه با نانوذرات و ذرات بزرگتر پوشیده شده است. ذرات ریزتر به رنگ تیره‌تر، در پس‌زمینه تصاویر مشاهده می‌شوند که اندازه تقریبی ۲۰۰ نانومتر دارند. پوشش حاوی نانوذرات نقره تقریبا به طور همگن و یکنواخت سطح شیشه را پوشانده‌اند. ذرات درشت‌تر به رنگ روشن‌تر و سفیدتر دیده می‌شوند. در ضمن، در محلول کلوئیدی نقره، یون‌های نقره که در طی فرایند ساخت کلوئید هنوز کاهیده نشده‌اند؛ نیز می‌توانند با اعمال روش اسپاترینگ بر روی زیرلایه شیشه‌ای قرار گیرند و منجربه شکل‌گیری ذرات درشت‌تر شوند و یا خود منشا جوانه‌زنی و تشکیل نانوذرات جدید باشند. نانوذرات کوچکتر نقره، میدان‌های الکتریکی نزدیک قابل‌توجهی در اطراف خود ایجاد می‌کنند که حاصل تشدید پلاسمون‌های سطحی نقره است و چنانچه گونه‌های زیستی در این موقعیت‌ها قرار بگیرند؛ در معرض تابش میدان‌های الکتریکی نزدیک قرار می‌گیرند. ذرات بزرگتر، میدان‌های الکتریکی نزدیکِ ناچیزی دارند و نور تابیده‌شده به آنها، از سطح آنها پراکنده می‌شود یا میدان الکتریکی دور را تقویت می‌کنند [۳۴]. بنابراین، با افزایش زمان لایه‌نشانی، به‌دلیل تشکیل ذرات بزرگتر اثر پراکندگی از سطح ذرات درشت‌تر در مقایسه با اثر میدان نزدیک، بیشتر است. شکل ۳- (د)، توزیع اندازه نانوذرات نقره برای شکل ۳- (ج) با استفاده از نرم‌افزار Digimizer (نسخه ۴٫۲) اندازه‌گیری شده است، را نشان می‌دهد که اندازه‌های بین ۲۰ تا ۲۰۰ نانومتر دارند و تعداد ذرات با اندازه ۲۰ و ۴۰ نانومتر بیشتر از سایر اندازه‌های نانوذرات است.



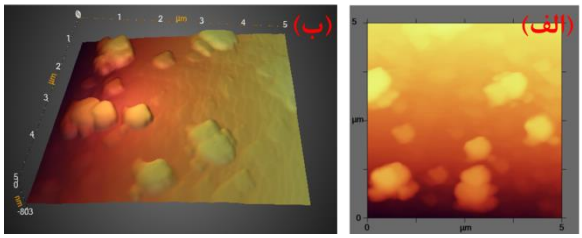
شکل ۳: تصاویر FE-SEM، (الف)، (ب) و (ج) به ترتیب مربوط به بسترهای پلاسمونیکی نقره لایه‌نشانی‌شده به روش اسپاترینگ در اسکیل بار ۲۰ میکرومتر، اسکیل بار ۵ میکرومتر و اسکیل بار ۱ میکرومتر و توزیع اندازه نانوذرات نقره برای شکل (د)، با استفاده از نرم‌افزار Digimizer (نسخه ٤,٢) اندازه‌گیری شده است، را نشان می‌دهد.

۴. تصاویر AFM، نانوذرات نقره پوشش داده‌شده بر روی شیشه به‌عنوان نانوحسگرهای پلاسمونیکی فعال SERS

از میکروسکوپ نیروی اتمی (AFM)، برای تشخیص رافنس (زبری) سطح استفاده شد. ازجمله مزیت‌های استفاده از AFM در تعیین ویژگی‌های نانوساختارهای جامد، عدم‌نیاز به فرایندهای آماده‌سازی نمونه و همچنین عدم‌نیاز به خلاء در زمان تصویربرداری است .ازسوی‌دیگر میکروسکوپ نیروی اتمی که بررسی سه‌بعدی نانوساختارها را ممکن‌ساخته، می‌تواند مکمل مناسبی برای میکروسکوپ الکترونی باشد [۳۵]. تصاویر از قسمت‌های مختلف

[Downloaded from icml.ir on 2026-10-31]

یک نمونه درنظر گرفته شد و اندازه ضخامت صفحات به صورت میانگین درنظر گرفته شده است. نمودار سه‌بعدی مورفولوژی هر زیرلایه نانوحسگرهای پلاسمونیکی فعال SERS نیز برای به‌دست‌آوردن زبری سطح مورد بررسی قرار گرفته‌اند [۳۶]. شکل ۴- (الف) و (ب)، به ترتیب تصویر AFM دوبعدی و سه‌بعدی را نشان می‌دهد. با کشیدن خط از قطر شکل ۴- (الف)، مشخصات مربوط به رافنس سطح با استفاده از نرم‌افزار Image Plus، (نسخه۹٫۲)، میانگین زبری ۴۲/۴ نانومتر، میانگین مرتفع‌ترین زبری ۱۸۴/۹ نانومتر و میانگین عمیق‌ترین زبری ۱۱۹/۳ به‌دست‌آمد. زبری سطحی نانوحسگرهای پلاسمونیکی فعال SERS ایجاد شده است؛ می‌تواند مراکزی برای پراکندگی نور باشد و باعث تقویت سیگنال رامان شود [۳۶].

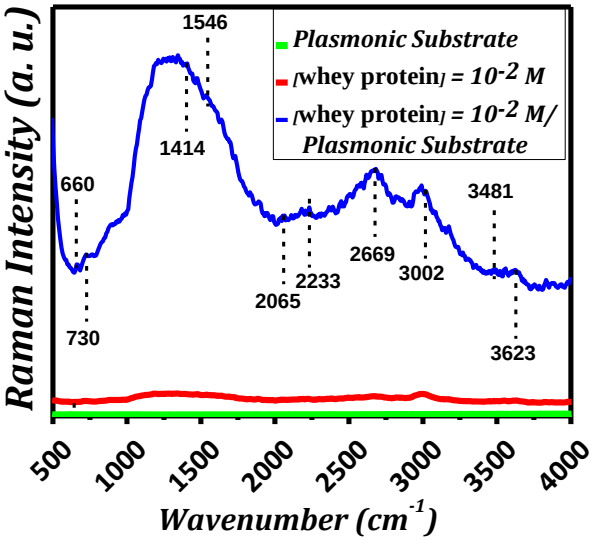


شکل-٤: تصاویر AFM، (الف) و (ب)، به ترتیب تصویر AFM دوبعدی و سه‌بعدی بسترهای شیشه‌ای حسگرهای پلاسمونیکی زیستی SERS ساخته شده از نانوذرات نقره را نشان می‌دهد.

۵. طیف رامان، طیف SERS و آشکارسازی مولکول پروتئین وی با استفاده از بستر پلاسمونیکی نقره

در شکل-۵، طیف رامان بستر پلاسمونیکی نقره (منحنی سبز)، طیف رامان مولکول پروتئین وی قرار داده‌شده با غلظت $۱۰^{-۲}$ مولار بر روی زیرلایه شیشه‌ای (منحنی قرمز)، طیف SERS مولکول پروتئین وی قرار داده شده با غلظت $۱۰^{-۲}$ بر روی بستر پلاسمونیکی نقره (منحنی آبی) مشاهده می‌شوند. در طیف رامان مولکول پروتئین وی که روی زیرلایه شیشه‌ای قرار داده شده‌اند (منحنی قرمز)؛ نشانی از ارتعاشات مولکولی مولکول پروتئین وی مشاهده نمی‌شود. بنابراین عملا شناسایی این‌گونه حتی با غلظت $۱۰^{-۲}$ مولار و با استفاده از طیف‌سنجی رامان امکان‌پذیر نیست. با قراردادن پروتئین وی با غلظت $۱۰^{-۲}$ مولار بر روی بستر پلاسمونیکی، ارتعاشات مولکولی پروتئین وی (شکل۵) ظاهر می‌شوند. ارتعاشات مولکولی مولکول پروتئین وی [۳۷] به صورت خط‌چین‌هایی بر روی طیف‌های مولکول پروتئین وی در شکل -۵ نمایش داده شده است. در مورد مولکول پروتئین وی قرار داده‌شده روی بستر پلاسمونیکی نقره، ارتعاشات کششی S-S، ارتعاشات Tryptophan، ارتعاشات Amid II و کششی CH_2 و خمشی CH_3، ارتعاشات پروتئین و CO- NH_2، ارتعاشات خمشی RCOOH، ارتعاشات خمشی RCOOH، ارتعاشات خمشی RCOOH، ارتعاشات کششی CH_2، ارتعاشات کششی O-H و ارتعاشات کششی N-H-N، به ترتیب در ۶۶۰، ۷۳۰، ۱۴۱۴، ۱۵۴۶، ۲۰۶۵، ۲۲۳۳، ۲۶۶۹، ۳۰۰۲، ۳۴۸۱ و ۳۶۲۳ cm^{-1} ظاهر می‌شوند. بهبود سیگنال رامان در اثر استفاده از بسترهای پلاسمونیکی، به‌دلیل پراکندگی نور از نقاط زبر روی سطح شیشه است. نقاط زبری که با نقره‌اندود کردن شیشه ایجاد شده است. ذرات بزرگتر نقره که در شکل ۳-(ج) مشاهده می‌شوند؛ با پراکنده‌کردن نور لیزر فرودی و رسیدن نور پراکنده‌شده به مولکول پروتئین وی، سیگنال رامان آنها را بهبود می‌دهند. در کنار پراکندگی نور از ذرات بزرگتر نقره یکی دیگر از دلایل بهبود سیگنال رامان، تشدید پلاسمون‌های سطحی ذرات کوچکتر نقره یا همان میدان‌های الکتریکی قوی اطراف این نانوذرات است. نانوذرات نقره مشاهده شده در شکل ۳- (ج) به مانند لنز اپتیکی عمل می‌کنند و نور لیزر فرودی را در اطراف خود متمرکز می‌کنند. بنابراین شدت میدان الکتریکی در نزدیکی نانوذرات افزایش می‌یابد و با قرارگیری مولکول پروتئین وی، در اطراف نانوذرات، شدت میدان الکتریکی قوی را تجربه می‌کنند و قطبیده‌تر می‌شوند و درنتیجه ارتعاش‌های مولکولی آنها تقویت می‌شود و سیگنال‌های پرشدت‌تری را نشان می‌دهند [۳۸-۳۹].

[Downloaded from icml.ir on 2026-10-31]



شکل ۵: طیف رامان بستر پلاسمونیکی نقره (منحنی سبز)، طیف رامان پروتئین وی با غلظت ۲-۱۰ قرار داده‌شده بر روی بستر شیشه‌ای (منحنی قرمز)، طیف SERS پروتئین وی قرار داده‌شده با غلظت ۲-۱۰ بر روی بستر پلاسمونیکی نقره (منحنی آبی). ارتعاشات مولکولی که در طیف SERS ظاهر شده‌اند؛ با خط‌چین مشخص شده است.

شکل ٦- الف، طیف SERS پروتئین وی، با غلظت‌های 10^{-2} (منحنی سیاه)، 10^{-3}(منحنی قرمز)، 10^{-4} (منحنی آبی)، 10^{-5} (منحنی صورتی) ، 10^{-6} (منحنی قهوه‌ای) و 10^{-7} (منحنی سبز) مولار قرار داده‌شده بر روی بستر پلاسمونیکی نقره را نشان می‌دهد. با کاهش غلظت مولکول پروتئین وی، شدت قله‌های ارتعاش‌های مولکولی آن کاهش می‌یابد که به‌دلیل کاهش تعداد مولکول‌های پروتئین وی و درنتیجه کاهش تعداد ارتعاش‌های مولکولی آن است به‌گونه‌ای که در غلظت‌های کمتر از 10^{-7} مولار، ارتعاش‌های پروتئین وی به‌راحتی قابل مشاهده نیستند. بنابراین بستر پلاسمونیکی نقره می‌تواند تا غلظت 10^{-7} مولار پروتئین وی را شناسایی کند. شکل٦-ب، منحنی کالیبراسیون است که منحنی تغییرات شدت سیگنال SERS ارتعاش‌های مولکولی Amid II و کششی CH_2 و خمشی CH_3، در عدد موج 1414 cm^{-1} را برحسب تغییرات لگاریتمی غلظت پروتئین وی، C، نشان می‌دهد که با برازش انجام‌شده از رابطه (۱) پیروی می‌کند.

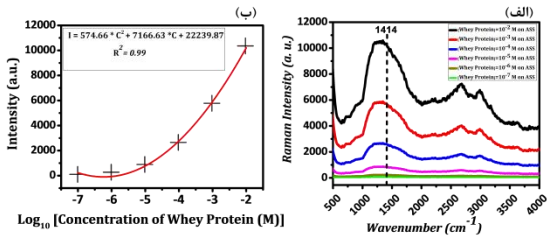
$$I = 574/66\, C^2 + 7166/63\, C + 22239/87 \quad (R^2=0/99) \quad (۱)$$

این رابطه نمایی است و ضریب رگراسیون (R^2) آن برابر با ۰/99 است. می‌توان با استفاده از این نمودار با مشاهده شدت قله ارتعاش‌های مولکولی Amid II و کششی CH_2 و خمشی CH_3، در طیف رامان، غلظت آن را به‌دست آورد. هدف از ساخت بستر پلاسمونیکی، آشکارسازی غلظت‌های بسیار پایین پروتئین وی است، نمایی‌بودن منحنی کالیبراسیون غلظت‌های پایین از اهمیت بیشتری برخوردار است که در این مطالعه قابل مشاهده است. در اولین تحقیقات در مورد SERS، از کلوئید طلا، نقره و مس یا سیم‌هایی از این فلزات استفاده می‌شد که به روش الکتروشیمیایی یا شیمیایی آن را خراش[1] می‌دادند تا سطحی با زبری خاصی که بتواند آثار SERS، را نشان دهند ایجاد شود، امروزه روش‌های مختلفی برای تهیه بسترهای فعال SERS، ازجمله: روش محلول‌های کلوئیدی[2] [٤٠-٤١]، نانوذرات فلزی به صورت هسته-پوسته[3] [٤٢-٤٣]، فناوری جوهرافشان حرارتی[4] [٤٢-٤٣]، نانوذرات ساخته‌شده در شرایط خلاء[5] [٤٢-٤٣]، روش نانولیتوگرافی[6] [٤٢-٤٣] وفرسایش لیزری[7] [٤٢-٤٣]، مورد استفاده قرار می‌گیرند. پژوهش‌های اخیر جهت شناسایی و تجزیه و تحلیل پروتئین وی با استفاده از روش تشدید پلاسمونیکی SERS، مورد بررسی قرارگرفته‌اند [٤٢-٤٣]. استفاده از هر کدام از روش‌های ذکر شده جهت تهیه بسترهای فعال SERS، در مقایسه با روش ارایه‌شده در این تحقیق نیاز به هزینه‌های زیاد دارند. درحال‌حاضر، برای تعیین مقدار پروتئین وی روش‌های متعددی مانند کروماتوگرافی گازی[8] و اسپکترومتری جرم[9] [٨، ٩]، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا [(HPLC[10])١٠] و طیف‌سنجی

[1] Etch
[2] colloidal solution method
[3] core shell metalnanoparticle
[4] thermal inkjet technology
[5] vacuum syn-thesized nanoparticles
[6] Nano lithography
[7] laser ablation
[8] Gas Chromatography
[9] Mass Spectroscopy
[10] High-performance Liquid Chromatography (HPLC)

[Downloaded from icml.ir on 2026-10-31]

تبدیل فوریه رامان (FT-Raman[1]) ۱۱، ۱۲، ۱۳] به‌کار برده می‌شود. این روش‌ها، روش‌هایی مخرب، دشوار، آلاینده، درون آزمایشگاهی، و نیازمند آماده‌سازی نمونه، نیروی متخصص آموزش‌دیده، آزمایشگاه‌های مجهز و صرف وقت و هزینه بسیار هستند. از این‌رو، توسعه یک روش غیرمخرب، با کاربری ساده، سریع، کم‌هزینه، ناآلاینده، با قابلیت حمل و کاربرد خارج از محیط آزمایشگاه و نیاز به آماده‌سازی کمتر نمونه بسیار ضروری است. از طرفی شناسایی و تشخیص مقادیر بسیار اندک از پروتئین وی نیز مورد توجه است. محدودیت‌های پروژه جاری شناسایی تک مولکول از پروتئین، آفت‌کش‌ها، مواد شیمیایی و آنالیت‌های بیولوژیکی با استفاده از این حسگرهای رامان بهبود یافته سطحی در این مقاله کار دشواری است که برای حل این محدودیت‌ها و جهت شناسایی تک مولکول از پروتئین، مواد شیمیایی و آنالیت‌های بیولوژیکی از سوزن میکروسکوپ نیروی اتمی Tip-enhanced Raman spectroscopy (TERS) مورد استفاده قرار گیرد که هزینه‌ها را افزایش می‌دهد پیشنهاد می‌شود. دقت و حساسیت حسگر ساخته‌شده در این پژوهش برای پروتئین وی تا غلظت 10^{-6}مولار است، بنابراین ازنظر اجرایی ساخت چنین حسگرهایی جهت تشخیص پروتئین وی نیاز به حداقل هزینه را دارند و اجرای چنین ساختاری از نظری اقتصادی مقرون‌به‌صرفه است.



شکل ٦: (الف) طیف SERS پروتئین وی قرار داده‌شده با غلظت‌های ۲- ۱۰ (منحنی سیاه)، ۳- ۱۰ (منحنی قرمز)، ٤- ۱۰ (منحنی آبی)، ٥-۱۰ (منحنی صورتی)، ٦-۱۰ (منحنی قهوه‌ای) و ۷-۱۰ (منحنی سبز) بر روی بستر پلاسمونیکی نقره و شکل ٦-(ب)، منحنی کالیبراسیون تغییرات شدت، I، سیگنال SERS مربوط به ارتعاش‌های مولکولی Amid II و کششی CH2 و خمشی CH3، در عدد موج ۱٤۱٤ cm-1، بر حسب تغییرات لگاریتمی غلظت پروتئین وی، C برای بستر پلاسمونیکی نقره نمایش داده شده است.

نتیجه‌گیری

به‌منظور شناسایی و کنترل بیماری‌های متعدد ناشی از مولکول پروتئین وی، تشخیص مولکول پروتئین وی در غلظت‌های کم دارای اهمیت است. روش طیف‌سنجی رامان روشی غیرمخرب برای شناسایی مولکول‌ها است اما به‌دلیل ضعیف بودن سیگنال رامان، عملا شناسایی غلظت‌های اندک از مولکول‌ها امکان‌پذیر نیست. با قرار دادن مولکول پروتئین وی، در معرض تشدید پلاسمون‌های سطحی نانوذرات فلزی مانند نقره و همچنین نور پراکنده شده از ذرات بزرگ فلزی، می‌توان سیگنال رامان را بهبود داد. با به کارگیری روش اسپاترینگ که روشی ساده، سریع و ارزان است؛ نانوذرات نقره بر روی بسترهای شیشه‌ای لایه‌نشانی شدند و این بسترها به عنوان بسترهای حسگرهای پلاسمونیکی زیستی SERS جهت آشکارسازی مولکول پروتئین وی استفاده شدند. با کاهش غلظت مولکول پروتئین وی سیگنال رامان آنها نیز کاهش می‌یابد که این بستر پلاسمونیکی ساخته‌شده از نانوذرات نقره قادر به شناسایی مولکول پروتئین وی تا غلظت 10^{-7} مولار هست. بهبود سیگنال رامان مولکول پروتئین وی ناشی از تشدید پلاسمون‌های سطحی نانوذرات نقره که با دریافت نور لیزر فرودی، نور را در منطقه کوچکی در اطراف خود متمرکز می‌کنند و با قرارگیری مولکول پروتئین وی در این مناطق و درنتیجه به‌دلیل دریافت میدان الکتریکی قوی‌تر، و یا رسیدن نور حاصل از پراکندگی از نقاط زبر پوشش نقره، مولکول‌های سازنده پروتئین وی قطبیده‌تر می‌شوند و در نتیجه ارتعاش‌های شدیدتری ظاهر می‌شوند. از مزایای بسترهای حسگرهای پلاسمونیکی زیستی SERS معرفی‌شده، استفاده آسان و توانایی تشخیص سریع غلظت‌های اندک است که برای ساخت آن نیز هزینه چندانی صرف نمی‌شود و با آنها می‌توان انواع پاتوژن‌های موجود در مواد غذایی و مواد بیولوژیکی را شناسایی کرد.

[1] Fourier transform Raman methods (FT-Raman)

[Downloaded from icml.ir on 2026-10-31]

References:

1.Traverso N, Balbis E, Sukkar S, Furfaro A, Sacchi- Nemours A, Ferrari C. Oxidative stress in the animal model: the possible protective role of milk serum protein. Mediterr J NutrMetab. 2010; 3: 173–8.

2. Haa E, Zemelb MB. Functional properties of Whey, Whey components, and essential amino acids. Mechanisms underlying health benefits for active people (Review). J Nutr Biochem .2003; 14(5): 251-8.

3. Marshall K. Therapeutic Application of Whey Protein. Alternat Med Review .2004; 9(2): 136-56.

4. Liam P, kilduff, P, Louise T, Jeff A, Paul H, Andrew D, et al. Effect of creatine on body composition and strength gains after 4 weeks of resistance training in previously nonresistance– trained humans. International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism. 2003; 13:504-20.

5. Marshall K. Therapeutic Application of Whey Protein. Altern Med Rev.2004; 9(2): 136-56.

6. Sinnott A, Maddela L, Nelson D, Bae P, Anderson JA. The modifying effects of a calcium-rich whey protein supplement (OsoLean Powder) on weight loss and waist circumference in overweight subjects: A Preliminary Study. The Open Nutra ceuticals J.2009; 2:36-41.

7. Denysschen C, Burton H, Horvath P, Leddy J, Browne R. Resistance training with soy vs whey protein supplements in hyperlipidemia males. J IntSoc Sports Nutr.2009; 11(1): 6-8.

8. Patsias J, Papadopoulou-Mourkidou EJ. Rapid method for the analysis of a variety of chemical classes of pesticides in surface and ground waters by off-line solid-phase extraction and gas chromatography-ion trap mass spectrometry. Journal of Chromatography. 1998; 740:83-98.

9. Goncalves C, Alpendurada MF. Solid-phase micro-extraction–gaschromatography–(tandem) mass spectrometry as a tool for pesticide residue analysis in water samples at high sensitivity and selectivity with confirmation capabilities. Journal of Chromatography. 2004; 1020:239-50.

10. Zavatski S, Khinevich N, Girel K, Redko S, Kovalchuk N, Komissarov I, Lukashevich V, Semak I, Mamatkulov K, Vorobyeva V, Arzumanyan G, Bandarenka H. Surface Enhanced Raman Spectroscopy of Lactoferrin Adsorbed on Silvered Porous Silicon Covered with Graphene. Biosensors. 2019; 9(1): 34.

11. Skoulika SG, Georgiou CA .Univariate and Multivariate Calibration for the Quantitative Determination of Methyl-parathion in Pesticide Formulations by FT-Raman Spectroscopy. Applied Spectroscopy. 2000; 54: 747-52.

12. Sato-Berru RY, Medina-Valtierra J, Medina Gutierrez C, Frausto-Reyes C. Quantitative NIR–Raman analysis of methyl-parathion pesticide microdroplets on aluminum substrates. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2004; 60:2231-4.

13. Alak-Ala M, Vo-Dinh T. Surface-enhanced Raman spectrometry of organo phosphorus chemical agents. ACS Publication Analytical Chemistry.1987; 59: 2149-53.

14. Ivanov AN, Evtyugin GA, Brainina KZ, Budnikov GK, Stenina LE. Cholinesterase Sensors Based on Thick-Film Graphite Electrodes for the Flow-Injection Determination of Organophosphorus Pesticides. Journal of Analytical Chemistry. 2002; 57:1042-8.

15. Alizadeh T. HighSelective Parathion Voltammetric Sensor Development by Using an Acrylic Based Molecularly Imprinted Polymer-Carbon Paste Electrode. Electroanalysis. 2009; 21:1490-8.

[Downloaded from icml.ir on 2026-10-31]

16. Duan N, Chang B, Zhang H, Wang Z, Wu S. Salmonella typhimurium detection using a surface-enhanced Raman scattering-based aptasensor. International Journal Food Microbiology. 2016; 218: 38-43.

17. Wang LR, Fang Y. IR-SERS study and theoretical analogue on the adsorption behavior of pyridine carboxylic acid on silver nanoparticles. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2006; 63: 614-8.

18. T R Jensen, J Phys. Chem. B 17, 23 (1999) 9846.

19. L Sunmook, "Surface Modification of Gold Nanoparticles and Their Application in Biomolecular Sensing", Institute of Technology, Chicago(2007).

20. J Homola, S Yee, and G Gauglitz, Sens. Actuators B Chem. 54, 1-2 (1999) 3.

21. A Nooke, U Beck, A Hertwig, A Krause, H Kruger, V Lohse, D Negendank, and J Steinbach, Sens. Actuators B Chem. 149, 1 (2010) 194.

22. J Homola, J Dostálek, S F Chen, A Rasooly, S Jiang, and S S Yee, Int. J. Food Microbiol. 75, 1-2 (2002) 61.

23. V V Koubova, E Bryndaa, L Karasova, J Škvor, J Homola, J Dostalek, P Tobiška, and J Rošicky, Sens. Actuators B Chem. 74 (2001) 100.

24. J Homola, H Vaisocherová, J Dostálek, and M Piliarik, Methods 37, 1 (2005) 26.

25. S Patskovsky, M Meunier, P N Prasad, and A V Kabashin, Opt. Express 18, 14 (2010) 14353.

26. X D Hoa, A G Kirk, and M Tabrizian, Biosens. Bioelectron 23, 2 (2007) 151.

27. Zong C, Xu M, Xu LJ, Wei T, Ma X, Zheng XS, Hu R, Ren B: Surface-enhanced Raman spectroscopy for bioanalysis: reliability and challenges. Chem Rev 2018, 118: 4946–4980.

28. Ren B, Liu GK, Lian XB, Yang ZL, Tian ZQ. Raman spectroscopy on transition metals. Analytical and bioanalytical chemistry. 2007; 388: 29-45.

29. Matricardi C, Hanske C, Garcia-Pomar JL, Langer J, Mihi A, Liz-Marzan LM. Gold Nanoparticle Plasmonic Superlattices as Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Substrates. ACS Nano. 2018; vol. 12: 8531-9.

30. Lin KQ, Yi J, Hu S, Liu BJ, Liu JY, Wang X, Ren B. Size effect on SERS of gold nanorods demonstrated via single nanoparticle spectroscopy. The Journal of Physical Chemistry C. 2016; 120: 20806-3.

31. Zhu, Zicheng, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito, Bin Fan, and Eiichi Tamiya. "Fabrication of Surface-enhanced Raman Spectroscopy (SERS)–Active Electrodes by Silver Sputtering Deposition for Electrochemical SERS Analysis." Electroanalysis 30, no. 7 (2018): 1432-1437.

32. Eskandari, Vahid, Azadeh Kordzadeh, Leila Zeinalizad, Hossein Sahbafar, Hossna Aghanouri, Amin Hadi, and Sajad Ghaderi. "Detection of molecular vibrations of atrazine by accumulation of silver nanoparticles on flexible glass fiber as a surface-enhanced Raman plasmonic nanosensor." Optical Materials 128 (2022): 112310.

33. Bohren CF, Huffman DR. Absorption and Scattering of Light by Small Particles. Wiley. New York. 1983; 306: 625.

34. S.Y. Ding, E.M. You, Z.Q. Tian, M. Moskovits. Electromagnetic theories of surface-enhanced Raman spectroscopy. Journal of Chemical Society Reviews. 2017; 46: 4042-76.

[Downloaded from icml.ir on 2026-10-31]

35. Zhang L, Liu J, Zhou G, Zhang Z. Controllable In-Situ Growth of Silver Nanoparticles on Filter Paper for Flexible and Highly Sensitive SERS Sensors for Malachite Green Residue Detection. Nanomaterials. 2020 May; 10(5):826.

36. Tarik Baytekin H, Baytekin B, Huda S, Yavuz Z, Grzybowski BA. Mechanochemical Activation and Patterning of an Adhesive Surface toward Nanoparticle Deposition. Journal of the American Chemical Society. 2015; 137: 1726-9.

37. Wang Q, He L, P.Labuza T, Ismail B. Structural characterisation of partially glycosylated whey protein as influenced by pH and heat using surface-enhanced Raman spectroscopy. FOOD CHEMISTRTY. 2013; 139: 313-9.

38. Chen HY, Lin MH, Wang CY, Chang YM, Gwo S. Large-scale hot spot engineering for quantitative SERS at the single-molecule scale. Journal of the American Chemical Society. 2015; 42: 13698-705.

39. Granger JH, Schlotter NE, Crawford AC, Porter MD. Prospects for point-of-care pathogen diagnostics using surface-enhanced Raman scattering (SERS). Chemical Society Reviews. 2016; 45: 3865-82.

40. N. Biswas, S. Kapoor, H.S. Mahal, T. Mukherjee. Adsorption of CGA on colloidal silver particles: DFT and SERS study. Chemical Physics Letters. 2007; 444: 338-345.

41. S.S.R. Dasary, U.S. Rai, H. Yu, Y. Anjaneyulu, M. Dubey, P. C. Ray. Gold nanoparticle based surface enhanced fluorescence for detection of organophosphorus agents. Chemical Physics Letters. 2008; 460: 187-190.

42. R. Botta, A. Rajanikanth, C. Bansal. Surface Enhanced Raman Scattering studies of l-amino acids adsorbedon silver nanoclusters. Chemical Physics Letters. 2015; 618: 14-19.

43. Schong E, Famelart MH. Dry heating of whey proteins. Food Research International. 2017 Oct 1; 100:31-44.

[Downloaded from icml.ir on 2026-10-31]