



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2016-0097626
(43) 공개일자 2016년08월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 21/552 (2014.01)

(52) CPC특허분류
G01N 21/553 (2013.01)
G01N 21/554 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-0019542

(22) 출원일자 2015년02월09일

심사청구일자 2015년02월09일

(71) 출원인

이화여자대학교 산학협력단

서울특별시 서대문구 이화여대길 52 (대현동, 이화여자대학교)

(72) 발명자

김동하

서울특별시 마포구 서강로9길 45 (창전동)

정경화

경기도 부천시 소사구 소삼로 47, 103동 2502호
(소사본동, 부천소사역 푸르지오)

(74) 대리인

특허법인엠에이피에스

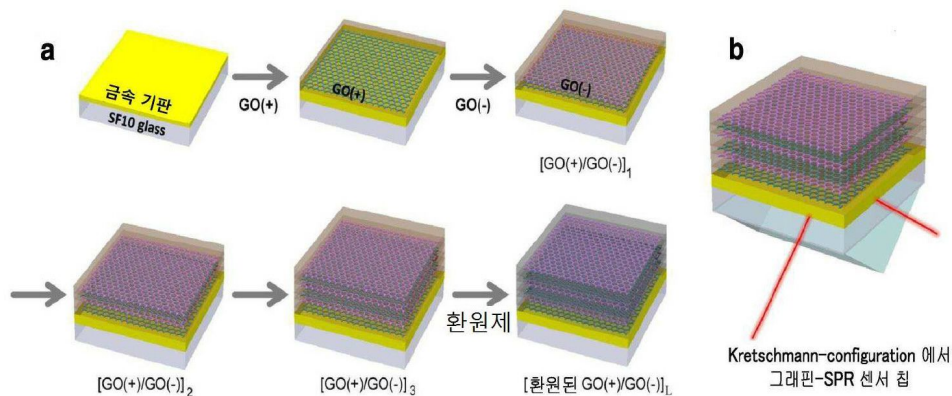
전체 청구항 수 : 총 10 항

(54) 발명의 명칭 표면 플라즈몬 공명 센서 및 이의 제조 방법

(57) 요약

표면 플라즈몬 공명 센서 및 상기 표면 플라즈몬 공명 센서의 제조 방법에 관한 것이다.

대표도



이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 1711015106

부처명 미래창조과학부

연구관리전문기관 한국연구재단

연구사업명 기초연구사업(학술진흥)(2014)-중견연구자지원사업-도약연구지원사업(도전)(융합)

연구과제명 플라즈모닉 결합효과 극대화 발현 하이브리드 나노구조체 도출에 의한 광전환 효율 향상
연구

기 여 율 1/1

주관기관 이화여자대학교 산학협력단

연구기간 2014.05.01 ~ 2017.04.30

명세서

청구범위

청구항 1

금속 기판에 적층된 그래핀 적층체를 포함하는, 표면 플라즈몬 공명 센서.

청구항 2

제 1 항에 있어서,
상기 금속 기판은 Ag, Au, Cu, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 포함하는 것인, 표면 플라즈몬 공명 센서.

청구항 3

제 1 항에 있어서,
상기 그래핀 적층체는 상기 금속 기판 상에서 층상 자기조립법(layer-by-layer self-assembly)에 의해 형성되는 것인, 표면 플라즈몬 공명 센서.

청구항 4

제 1 항에 있어서,
상기 그래핀 적층체는 양전하로 하전된 그래핀 산화물층 및 음전하로 하전된 그래핀 산화물층을 포함하는 이중층을 포함하는 것인, 표면 플라즈몬 공명 센서.

청구항 5

제 4 항에 있어서,
상기 그래핀 적층체는 상기 이중층을 환원시킨 환원된 그래핀 산화물을 포함하는 것인, 표면 플라즈몬 공명 센서.

청구항 6

양전하로 하전된 그래핀 산화물-함유 용액에 금속 기판을 침지시켜 양전하로 하전된 그래핀 산화물층이 증착된 기판을 형성하는 단계;

상기 양전하로 하전된 그래핀 산화물층이 증착된 기판을 음전하로 하전된 그래핀 산화물-함유 용액에 침지시켜 상기 양전하로 하전된 그래핀 산화물층에 음전하로 하전된 그래핀 산화물층을 증착시켜 그래핀 산화물 이중층이 증착된 기판을 형성하는 단계; 및,

상기 그래핀 산화물 이중층이 증착된 기판의 상기 그래핀 산화물 이중층을 환원제에 의해 환원시켜 환원된 그래핀 산화물층을 형성하는 단계

를 포함하는, 표면 플라즈몬 공명 센서의 제조 방법.

청구항 7

제 6 항에 있어서,

상기 금속 기판은 Ag, Au, Cu, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 포함하는 것인, 표면 플라즈몬 공명 센서의 제조 방법.

청구항 8

제 6 항에 있어서,

상기 그래핀 산화물 이중층은 층상 자기조립법(layer-by-layer self-assembly)에 의해 형성되는 것인, 표면 플라즈몬 공명 센서의 제조 방법.

청구항 9

제 6 항에 있어서,

상기 양전하로 하전된 그래핀 산화물-함유 용액 및 상기 음전하로 하전된 그래핀 산화물-함유 용액에 상기 기판을 침지시키는 것을 반복 수행하는 것을 추가 포함하는, 표면 플라즈몬 공명 센서의 제조 방법.

청구항 10

제 6 항에 있어서,

상기 그래핀 산화물 이중층을 상기 환원제에 의해 환원시키는 것은 25℃ 내지 80℃의 온도 범위에서 수행되는 것인, 표면 플라즈몬 공명 센서의 제조 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본원은, 표면 플라즈몬 공명 센서 및 상기 표면 플라즈몬 공명 센서의 제조 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 표면 플라즈몬 폴라리톤(surface plasmon polariton, SPP)은 얇은 금속 필름과 유전체의 계면에 빛(광자)이 입사할 때 공명 현상이 유도되면서 자유 전자가 집단적으로 진동하며 진행하는 증폭된 에너지의 전하 밀도이다. 표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance, SPR)의 특징은 공진 주파수에서 증폭된 전자기장 및 나노스케일 크기에서 금속-유전체 계면으로의 에너지 구속을 포함한다. 이 점에 있어서, 가시광 내지 근적외선 범위에서 SPR 특징을 보여주는 귀금속 나노구조체는 발광 향상, 가시광 활성 광촉매, 광전지, 및 광학적 바이오센서 등과 같은 다양한 응용에서 적용되어왔다. 이러한 응용 중에서, SPR 센서는 최근 20 년 동안 표지(라벨)가 없고 실-시간 생체 분자 센싱을 위한 다목적의 도구로서 사용되었다. 그러나, SPR 센서의 민감도는 아직 단일 분자를 감지할 수 있을 정도로 향상되지는 않았다. SPR 센서의 민감도를 향상시키기 위한 방법으로, SPR 센서 칩상에 부가적인 플라즈모닉 나노구조를 결합하는 방법이 있다. 상기 방법은 조절된 크기 및 측면 거리를 가진 금속 나노입자와 나노회절격자와 같은 플라즈모닉 나노구조를 Kretschmann-배열 SPR 센서에서 사용하고, 결합장(couple field) 향상에 의해 민감도가 향상되는 것이다.

[0003] SPR 센서의 민감도 향상을 위한 또 다른 새로운 접근 방법은 그래핀을 활용하는 것이다. 높은 전기적, 열적 전도성, 높은 양자 효율, 및 뛰어난 기계적 강도와 같은 몇몇의 특유의 특징을 가지는 sp^2 -결합된 탄소 원자를 가진 단일-원자-두께 층인 그래핀은, 광-전자 소자의 발전을 위한 과학적, 산업적 분야의 많은 주목을 받고 있다 [Meyer, J., Carbon Sheets an Atom Thick Give Rise to Graphene Dreams. Science 2009,324, 875-877]. 또한, 그래핀에서의 플라즈몬 현상은 최근 일부 연구원들에 의해 집중적으로 연구되었고, SPR-기반 광학적 나노소자 응용을 위한 유망한 물질로서 그래핀을 사용하는 연구가 보고되었다. 게다가, 넓은 표면적과 생체 분자와의 강한 상호작용과 같은 그래핀과 그래핀 유도체의 특징은, 생체의학적 응용에서 그래핀의 사용을 이끌었다. 그러나, 가시광 영역에서 그래핀 플라즈몬의 여기(excitation) 현상은 여전히 논쟁의 대상으로 남아있다. 그래핀 플라즈몬의 대부분이 테라 헤르츠(THz) 주파수에서 증명되어왔지만, 가시 광선 여기 또한 이론상으로 예상되었다. 그러나, 가시 광선 여기의 실제 응용을 위해서는 단층 그래핀의 비교적 높은 광 흡수에도 불구하고 광-물질 상호작용을 향상시키는 것이 요구된다. 이 점에 있어서, 종래 플라즈모닉 소자에서의 그래핀 사용이 제안되어왔다. 예를 들어, Wu 등은 선구적인 연구 중 하나로서 그래핀-금(Au) 필름 기반의 SPR 바이오센서를 제안했다. 그들은 강하고 안정한 생체분자 흡착과 그래핀의 광학적 성질 때문에 그래핀 층 수와 민감도 사이의 비례하는 관계를 알아냈다. 또한 SPR 이미징 센서에서 그래핀 상에-Au 기판의 민감도가 연구되어왔다. Verma 등은 유전체 실리콘 층을 포함하는 SPR 센서를 위한 최적화된 구조를 증명하기 위해 시도해왔고, 그래핀 이중층을 가진 40 nm Au와 7 nm Si 층이 633 nm 파장 광을 사용하는 SPR 센서에 최적의 구조인 것으로 추측하였다.

[0004] 층상 조립법은 반대로 전하된 물질로 구성되는 명확한 두께를 가진 박막을 제조하기 위한 용이하고 저렴한 방법이다. 카르복실산, 에폭시, 및 하이드록실기를 포함하는 화학적으로 제조된 그래핀 산화물(GO) 시트처럼, 조절 가능한 두께를 가진 GO의 다중 층의 형성은 반발력 때문에 선호되지 않는다. 그러므로 아민기의 공유 결합 형성 또는 고분자 전해질로 코팅하는 것에 의한 GO 상에 양전하의 도입은 층상(layer-by-layer, LbL) 조립법을 도입하기 위하여 개발되었다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본원은, 표면 플라즈몬 공명 센서 및, 상기 표면 플라즈몬 공명 센서의 제조 방법을 제공하고자 한다.

[0006] 그러나, 본원이 해결하고자 하는 과제는 이상에서 언급한 과제로 제한되지 않으며, 언급되지 않은 또 다른 과제들은 아래의 기재로부터 당업자에게 명확하게 이해될 수 있을 것이다.

과제의 해결 수단

[0007] 본원의 제 1 측면은, 금속 기판에 적층된 그래핀 적층체를 포함하는, 표면 플라즈몬 공명 센서를 제공한다.

[0008] 본원의 제 2 측면은, 양전하로 하전된 그래핀 산화물-함유 용액에 금속 기판을 침지시켜 양전하로 하전된 그래핀 산화물층이 증착된 기판을 형성하는 단계; 상기 양전하로 하전된 그래핀 산화물층이 증착된 기판을 음전하로 하전된 그래핀 산화물-함유 용액에 침지시켜 상기 양전하로 하전된 그래핀 산화물층에 음전하로 하전된 그래핀 산화물층을 증착시켜 그래핀 산화물 이중층이 증착된 기판을 형성하는 단계; 및, 상기 그래핀 산화물 이중층이 증착된 기판의 상기 그래핀 산화물 이중층을 환원제에 의해 환원시켜 환원된 그래핀 산화물층을 형성하는 단계를 포함하는, 표면 플라즈몬 공명 센서의 제조 방법을 제공한다.

발명의 효과

[0009] 본원의 일 구현예에 따른 표면 플라즈몬 공명 센서는 층상 자기조립법에 의해 금속 기판 상에 양전하 및 음전하로 하전된 그래핀 산화물을 번갈아 증착시킨 다층 그래핀 박막을 이용함으로써 상기 다층 그래핀 박막의 두께 제어를 통해 센싱 성능을 최대화 및 최적화할 수 있다.

[0010] 본원의 일 구현예에 따른 표면 플라즈몬 공명 센서는, 표면 플라즈몬 공명 센서에 그래핀 플라즈몬을 도입함으로써 그래핀의 넓은 표면적으로 인한 생체분자의 부착이 증가하고, 전자기장이 증가함에 따라 표면 플라즈몬 플

라리톤과 결합한 표면장 강도의 향상 및 확대된 길이를 야기할 수 있다. 또한 그래핀 플라즈몬과 표면 플라즈몬 폴라리톤의 결합은 금속 기관 상에 증상 조립된 그래핀 산화물과 그에 따른 환원된 그래핀 산화물을 용이하게 증착시킬 수 있고, 이에 따라 종래 표면 플라즈몬 공명 센서보다 민감도를 향상시킬 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0011]

도 1의 (a) 및 (b)는, 본원의 일 구현예에 따른 증상 방법에 의한 표면 플라즈몬 공명 센서의 제조 방법을 나타낸 모식도이다.

도 2의 (a) 및 (c)는, 본원의 일 실시예에 따른 표면 플라즈몬 공명 센서의 표면 플라즈몬 공명(SPR) 각도 스캔 곡선을 나타낸 것이다.

도 3의 (a) 및 (b)는, 각각 본원의 일 실시예에 따른 Au 코팅된 유리 기관(a) 및 열처리한 후의 GO(+)/GO(-)-Au 샘플(b)의 사진을 나타낸 것이다.

도 4는, 본원의 일 실시예에 따른 $[GO(+)/GO(-)]_4$ -Au 및 [환원된 GO(+)/GO(-)]₄-Au의 라만 스펙트럼이다.

도 5의 (a) 및 (d)는, 각각 본원의 일 실시예에 따른 각각 회석된 GO 용액으로부터 GO(-)(a), GO(+)(b)의 AFM 이미지, 및 해당하는 단면 높이 프로파일(c 및 d)을 나타낸 것이다.

도 6의 (a) 및 (c)는, 각각 본원의 일 실시예에 따른 순수(bare) Au 필름(a), $[GO(+)/GO(-)]_3$ -Au 샘플(b), 및 [환원된 GO(+)/GO(-)]₃-Au 샘플(c)의 AFM 이미지이다.

도 7의 (a) 및 (b)는, 각각 본원의 일 실시예에 따른 $[GO(+)/GO(-)]_3$ -Au의 SEM 이미지(a) 및 Au 필름과 $[GO(+)/GO(-)]_3$ -Au의 최소 감도를 계산하기 위한 대표도(b)이다.

도 8의 (a) 및 (e)는, 본원의 일 실시예에 따른 L = 1 내지 5 일 때 각각의 $[GO(+)/GO(-)]_L$ -Au 샘플의 SEM 이미지이다.

도 9의 (a) 및 (c)는, 각각 본원의 일 실시예에 따른 $[GO(+)/GO(-)]_3$ -Au 샘플의 굴절률 민감도(a), 매질의 굴절률과 SPR 각도 사이의 관계(b), 및 상이한 샘플로부터 취득된 RI 민감도(c)를 나타낸 그래프이다.

도 10의 (a) 및 (e)는, 본원의 일 실시예에 따른 $[GO(+)/GO(-)]_L$ -Au 샘플로부터 취득된 굴절률 센싱에 대한 정적 스캔 모드 SPR 센서그램(sensorgram)을 나타낸 것이다.

도 11의 (a) 및 (e)는, 본원의 일 실시예에 따른 [환원된 GO(+)/GO(-)]_L-Au 샘플의 굴절률 센싱에 대한 정적 스캔 모드 SPR 센서그램을 나타낸 것이다.

도 12는, 본원의 일 실시예에 따른 Au 필름의 굴절률 센싱에 대한 정적 스캔 모드 SPR 센서그램을 나타낸 것이다.

도 13의 (a) 및 (d)는, 각각 본원의 일 실시예에 따른 BSA 및 항-BSA 센싱 SPR 각도 스캔 곡선(a), MPA-수정된 Au 필름을 사용한 in-situ 키네틱 곡선(b), 및 $[GO(+)/GO(-)]_3$ -Au의 SPR 각도 스캔 곡선(c)과 in-situ 키네틱 곡선(d)을 나타낸 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012]

아래에서는 첨부한 도면을 참조하여 본원이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자가 용이하게 실시할 수 있도록 본원의 실시예를 상세히 설명한다. 그러나 본원은 여러 가지 상이한 형태로 구현될 수 있으며 여기에서 설명하는 실시예에 한정되지 않는다. 그리고 도면에서 본원을 명확하게 설명하기 위해서 설명과 관계없는 부분은 생략하였으며, 명세서 전체를 통하여 유사한 부분에 대해서는 유사한 도면 부호를 붙였다.

[0013]

본원 명세서 전체에서, 어떤 부분이 다른 부분과 “연결”되어 있다고 할 때, 이는 “직접적으로 연결”되어 있는 경우뿐 아니라, 그 중간에 다른 소자를 사이에 두고 “전기적으로 연결”되어 있는 경우도 포함한다.

[0014]

본원 명세서 전체에서, 어떤 부재가 다른 부재 “상에” 위치하고 있다고 할 때, 이는 어떤 부재가 다른 부재에

접해 있는 경우뿐 아니라 두 부재 사이에 또 다른 부재가 존재하는 경우도 포함한다.

- [0015] 본원 명세서 전체에서, 어떤 부분이 어떤 구성 요소를 “포함” 한다고 할 때, 이는 특별히 반대되는 기재가 없는 한 다른 구성 요소를 제외하는 것이 아니라 다른 구성 요소를 더 포함할 수 있는 것을 의미한다. 본원 명세서 전체에서 사용되는 정도의 용어 “약”, “실질적으로” 등은 언급된 의미에 고유한 제조 및 물질 허용오차가 제시될 때 그 수치에서 또는 그 수치에 근접한 의미로 사용되고, 본원의 이해를 돕기 위해 정확하거나 절대적인 수치가 언급된 개시 내용을 비양심적인 침해자가 부당하게 이용하는 것을 방지하기 위해 사용된다. 본원 명세서 전체에서 사용되는 정도의 용어 “~(하는) 단계” 또는 “~의 단계”는 “~를 위한 단계”를 의미하지 않는다.
- [0016] 본원 명세서 전체에서, 마쿠시 형식의 표현에 포함된 “이들의 조합(들)”의 용어는 마쿠시 형식의 표현에 기재된 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상의 혼합 또는 조합을 의미하는 것으로서, 상기 구성 요소들로 이루어진 군에서 선택되는 하나 이상을 포함하는 것을 의미한다.
- [0017] 본원 명세서 전체에서, “A 및/또는 B”의 기판은 “A 또는 B, 또는 A 및 B”를 의미한다.
- [0018] 이하, 첨부된 도면을 참조하여 본원의 구현예 및 실시예를 상세히 설명한다. 그러나, 본원이 이러한 구현예 및 실시예와 도면에 제한되지 않을 수 있다.
- [0019] 본원의 제 1 측면은, 금속 기판에 적층된 그래핀 적층체를 포함하는, 표면 플라즈몬 공명 센서를 제공한다.
- [0020] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 금속 기판은 Ag, Au, Cu, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0021] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 그래핀 적층체는 상기 금속 기판 상에서 층상 자기조립법(layer-by-layer self-assembly)에 의해 형성되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0022] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 그래핀 적층체는 양전하로 하전된 그래핀 산화물층 및 음전하로 하전된 그래핀 산화물층을 포함하는 이중층을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0023] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 그래핀 적층체는 상기 이중층을 환원시킨 환원된 그래핀 산화물을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0024] 본원의 제 2 측면은, 양전하로 하전된 그래핀 산화물-함유 용액에 금속 기판을 침지시켜 양전하로 하전된 그래핀 산화물층이 증착된 기판을 형성하는 단계; 상기 양전하로 하전된 그래핀 산화물층이 증착된 기판을 음전하로 하전된 그래핀 산화물-함유 용액에 침지시켜 상기 양전하로 하전된 그래핀 산화물층에 음전하로 하전된 그래핀 산화물층을 증착시켜 그래핀 산화물 이중층이 증착된 기판을 형성하는 단계; 및, 상기 그래핀 산화물 이중층이 증착된 기판의 상기 그래핀 산화물 이중층을 환원제에 의해 환원시켜 환원된 그래핀 산화물층을 형성하는 단계를 포함하는, 표면 플라즈몬 공명 센서의 제조 방법을 제공한다.
- [0025] 도 1의 (a) 및 (b)는, 본원의 일 구현예에 따른 표면 플라즈몬 공명 센서의 층상(layer-by-layer, LbL) 방법에 의한 그래핀 산화물(GO) 증착 방법[도 1의 (a)] 및 GO-금속 기판의 Kretschmann 구성[도 1의 (b)]의 모식도를 나타낸 것이다.
- [0026] 도 1의 (a)에 도시된 바와 같이, 금속 기판(예를 들어, Au) 상에 층상 조립에 의해 양전하로 하전된 그래핀 산화물[GO(+)]층과 음전하로 하전된 그래핀 산화물[GO(-)]층이 교대로 증착된 그래핀 이중층을 반복하여 증착시킨 후, 환원제에 의해 환원시켜 환원된 그래핀 산화물층을 제조한다. 상기 그래핀 이중층의 수는 1 내지 5일 수 있으며, 즉, $[GO(+)/GO(-)]_L$ (L은 상기 그래핀 이중층의 증착수, L=1 내지 5)이다.
- [0027] 도 1의 (b)에 도시된 바와 같이, 상기 증착 공정을 확인하기 위해서 상기 $[GO(+)/GO(-)]_L$ -증착된 금속 기판 샘플은 Kretschmann-배열로서 SPR 센서 이용된다.
- [0028] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 금속 기판은 Ag, Au, Cu, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.

- [0029] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 그래핀 산화물 이중층은 층상 자기조립법(layer-by-layer self-assembly)에 의해 형성되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0030] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 양전하로 하전된 그래핀 산화물-함유 용액 및 상기 음전하로 하전된 그래핀 산화물-함유 용액에 상기 기판을 침지시키는 것을 반복 수행하는 것을 추가 포함할 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0031] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 환원제는 하이드라진, 소듐 보로하이드라이드, 소듐 클로라이드, 소듐 하이드록사이드, 소듐 포스피네이트 모노하이드레이트, 암모늄 하이드록사이드, 포타슘 브로마이드 및 세틸트리메틸암모늄브로마이드, 및 이들의 조합들로 이루어진 군으로부터 선택되는 것을 포함하는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0032] 본원의 일 구현예에 있어서, 상기 그래핀 산화물 이중층을 상기 환원제에 의해 환원시키는 것은 약 25℃ 내지 약 80℃의 온도 범위에서 수행되는 것 일수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다. 예를 들어, 상기 그래핀 산화물 이중층을 상기 환원제에 의해 환원시키는 것은 약 25℃ 내지 약 80℃, 약 25℃ 내지 약 70℃, 약 25℃ 내지 약 60℃, 약 25℃ 내지 약 50℃, 약 25℃ 내지 약 40℃, 약 25℃ 내지 약 30℃, 약 30℃ 내지 약 80℃, 약 40℃ 내지 약 80℃, 약 50℃ 내지 약 80℃, 약 60℃ 내지 약 80℃, 또는 약 70℃ 내지 약 80℃의 온도 범위에서 수행되는 것일 수 있으나, 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0033] 이하, 본원의 실시예를 상세히 설명한다. 그러나, 본원이 이에 제한되지 않을 수 있다.
- [0034] **[실시예]**
- [0035] **<물질 및 시약>**
- [0036] 흑연, 황산(H_2SO_4), 질산나트륨($NaNO_3$), 과망간산칼륨($KMnO_4$), 염화바륨($BaCl_2$), N-(3-디메틸아미노프로필)-N'-에틸카보디이미드 하이드로클로라이드[N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride, EDC], 에틸아민(ethylamine), 트리에틸아민(triethylamine), 소 혈청 알부민[bovine serum albumin, BSA(98%)], 및 항-소 혈청 알부민 항체[anti-bovine serum albumin antibody(produced in rabbit, anti-BSA antibody, 4.8 mg/mL)]은 Sigma-Aldrich에서 구매하였다. 모든 다른 화학 시약은 대정 화학(Korea)으로부터 구매하였다.
- [0037] **<그래핀 산화물의 제조>**
- [0038] 음전하로 하전된 그래핀 산화물 $[GO(-)]$ 은 수정된 Hummer's 방법을 사용하여 제조하였다. 흑연 플레이크(2.5 g)는 강한 교반 하에서 플라스크에서 H_2SO_4 (57 mL)과 혼합하였다. $NaNO_3$ (1.5 g)을 상기 혼합물에 첨가하여 1 시간 동안 교반한 후, 상기 분산액은 아이스 베스에서 0℃로 냉각하였다. $KMnO_4$ (7.5 g)은 20℃ 이하 온도를 유지하는 동안 플라스크에 바람직하게는 드롭 방식으로 추가한 후 2 시간 동안 35℃에서 유지하였다. 냉각 탈이온수는 현탁액으로 서서히 추가하였다. 상기 혼합물은 15 분 동안 35℃에서 교반한 후, 탈이온수 350 mL와 30% H_2O_2 50 mL를 추가함으로써 희석하였다. 마지막으로, 상기 결과물인 황갈색 용액은 $BaCl_2$ 용액 시험에서 황산이온이 검출되지 않을 때까지 남아있는 금속 이온을 제거하기 위해 HCl와 탈이온수의 혼합물과 원심분리하였다. 밝은 갈색의 그래핀 산화물(GO) 용액은 여과액의 pH가 중성이 될 때까지 탈이온수로 반복적으로 세척하였다. 상기 결과로 수득된 GO 슬러리는 동결 건조되고 데시케이터에 보관하였다. 상기 GO의 필요한 양은 탈이온수에서 초음파 처리 후, 원심분리하여 음전하로 하전된 그래핀 산화물 $[GO(-)]$ 로서 사용하였다. 양전하로 하전된 GO $[GO(+)]$ 는 GO(-) 현탁액(50 mL)에 의해 제조되었고, EDC(500 mg), 에틸아민(5 mL), 및 트리에틸아민(1 mL)과 4 시간 동안 교반하고 나서 반응되지 않은 물질을 제거하기 위해 24 시간 동안 투석하였다.
- [0039] **<Au 필름 상에 GO의 층상(LbL) 증착>**
- [0040] 2 nm-두께 Cr 부착 층과 50 nm-두께 Au 층을 포함하는 유리 기판을 사용하였다. 상기 Au 기판은 O_2 플라즈마로

처리하였고(100 W, 50 sccm, 10 분), 10 분 동안 GO(+) 용액(0.1 mg/mL)에 담근 후 탈이온수로 세척하였다. 질소 흐름으로 건조한 후, 상기 기판은 GO(-) 용액(0.1 mg/mL)에 동일한 담금 시간과 세척 단계를 거친 후 침지되었다. 상기 담금은 조립된 GO 층의 바람직한 두께까지 반복적으로 수행하였고, 상기 수득된 다중 층은 $[GO(+)]/GO(-)]_L$ 로서 명명하였다. 상기 L은 이중층 GO의 증착수를 나타낸다(L=0 내지 5, L=0인 경우는 순수 Au 필름을 의미함).

[0041] <Au 필름 상에 증착된 GO의 환원>

[0042] LbL-조립된 GO-Au 필름은 12 시간 동안 80℃에서 하이드라진 증기에 의해 처리하였다.

[0043] <모의 실험>

[0044] GO 두께의 계산은 GO에 대한 $3 + 1.149106i$ 의 복합체 굴절률 값을 가진 Winspall software(RES-TEC, Germany)를 사용하여 수행하였다. 이것은 GO(+)와 GO(-) 모두가 같은 굴절률 값을 가진다는 가정 하에 수행하였다.

[0045] <LbL-조립된 GO-Au 필름의 특성 분석>

[0046] 상기 샘플의 표면은 전계방출 주사전자현미경(FE-SEM, JSM-6700F, JEOL)과 탭핑(tapping) 모드에서 원자힘현미경(AFM, Dimension 3100, Veeco)을 사용하여 관찰하였다.

[0047] <SPR 측정>

[0048] SPR 측정(Resonant Technologies GmbH/RT2005 SPR spectrometer)은 LaSFN9 프리즘을 통해 Au 필름을 비추는 p-편광된 레이저 광원(He-Ne, 632.8 nm, 10 mW)를 사용하여 수행하였다. 모든 SPR 곡선은 이중으로 수집되었다.

[0049] <센싱 실험>

[0050] 탈이온수와 상이한 농도(5 wt% 내지 30 wt%)를 가지는 글리세롤 용액을 이용하여 굴절률(RI) 센싱($RI = 1.3334, 1.3388, 1.34481, 1.35106, 1.35749, 1.36404, 1.3707$)을 측정하였다. 상기 각각의 용액은 센싱 챔버에 이동된 후, SPR 각도 스캔이 수집되었다. 각각의 스캔에 대한 SPR 각도는 Winspall software를 사용하여 결정되었다.

[0051] 생체분자의 센싱은 BSA와 항-BSA 항체로 수행하였다. BSA 용액 100 $\mu\text{g/mL}$ 을 Au 필름의 그래핀 표면 상에 주입하였고, 흡착은 in-situ 측정하였다. 또한 6 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도를 가진 항-BSA 항체의 결합 결과는 고정된 각도에서 in-situ 운동 측정에 의해 관찰하였다.

[0052] <Au 필름 상에 GOs의 층상-조립의 관찰>

[0053] 도 1의 (a)에 도시된 바와 같이, 더 효과적이고 균일하게 Au 필름 상에 GO를 증착시키기 위해서, 하이드록시기를 가진 초기 GO, 에폭시, 카르복시산 작용기, 및 아민-작용기를 가진 GO는 LbL 조립에 의해 산소 플라즈마 처리된 Au 필름 상에 교대로 조립되었다.

[0054] GO(+) 와 GO(-)의 하나의 이중층 증착의 수는 0(순수 Au 필름)부터 5까지 제조하였고, 즉, $[GO(+)]/GO(-)]_L$ -Au였다. 증착 공정을 확인하기 위해서 $[GO(+)]/GO(-)]_L$ -Au 샘플은 Kretschmann 구성[도 1의 (b)]에서 프리즘과 결합시켰고, SPR 각도 스캔 곡선은 ex-situ로 측정하였다[도 2의 (a)]. 공명 각도는 층상 증착이 반복되는 것처럼 규칙적으로 이동하였고, 도 2의 (b)는 L과 SPR 각도 사이의 선형적 상호 관계를 나타내었다. 하나의 이중층, 예를 들어, GO(+)와 GO(-)의 교대 증착은 SPR 각도 이동의 $0.12 \pm 0.00242^\circ$ 를 유도했다. Winspall software를 사용한 모의 실험 연구로부터, 본 연구원들은 약 1.2 nm 두께 GO 층이 GO(+)와 GO(-) 층상 조립의 한 사이클에 의해 Au 표면에 증착되었다는 것을 추정하였다.

[0055] <GO의 환원>

[0056] GO의 환원은 SPR 민감도에 따른 그래핀의 산화 상태의 효과를 관찰하기 위해 하이드라진을 사용하여 수행하였다. $[GO(+)/GO(-)]_3-Au$ 샘플은 80℃에서 하이드라진 증기에 노출시켰고, SPR 각도 곡선은 환원 전과 동일한 샘플로부터 취득된 곡선과 비교하였다[도 2의 (c)]. 상기 ex-situ 환원 방법은 Au-코팅된 유리를 손상시키지 않는 반면, Ar/H_2 분위기 하의 400℃에서 열적 환원은 유리 기판의 투명도가 떨어지므로 심각하게 손상을 입는다[도 3의 (a) 및 (b)].

[0057] 도 2의 (c)에 나타난 바와 같이, GO의 환원은 그래핀의 굴절률에서 증가를 나타내는 SPR 각도 이동을 더 유도했다. 상기 결과는 상기 GO의 복소굴절률 $RI(N = n_1 + ik_i)$ 가 rGO의 RI 보다 더 작은 값으로 명시되어 있는 것을 나타내는 문헌과 일치한다. GO의 환원을 확인하기 위해서, 라만 스펙트럼(Raman spectra)을 측정하였다. GO와 rGO의 특징적 라만 피크는 도 4에 나타난 것처럼 확인되었다. D와 G 피크의 강도의 비율(I_D/I_G)은 그래핀의 무질서와 관련이 있다. GO의 I_D/I_G 는 1.05이고, 반면 하이드라진 증기를 사용하여 Au 필름에 그래핀 산화물의 성공적인 환원을 나타내는 rGO의 I_D/I_G 는 1.55 였다.

[0058] <GO증착된 SPR 칩의 표면 분석 및 각도 민감도>

[0059] 샘플의 표면은 AFM 이미지[도 5의 (a) 내지 (d), 도 6의 (a) 내지 (c), 및 표 1]와 SEM 이미지[도 7의 (a), 도 8의 (a) 내지 (e)]에 의해 관찰되었다. 제일 먼저, 도 5의 (a) 내지 (d)에 도시된 바와 같이, GO(-)와 GO(+)의 표면 위상 기하학이 연구되었다. AFM 높이 프로파일(도 5의 d)으로부터 취득된 아민-작용기를 가진 GO(+)의 두께는 1.45 nm였고, 이에 비하여 GO(-)의 값은 1.11 nm[도 3의 (c)]였고, 더 거친 표면은 이전에 보고된 연구와 일관되게 GO(-)에서 보다 GO(+)에서 관찰되었다. 게다가, GO의 환원 후 표면 거칠기의 감소는 AFM 분석에 의해 관찰되었다[도 6의 (a) 내지 (c)].

표 1

	순수 Au 필름	$[GO(+)/GO(-)]_3-Au$	[환원된 $GO(+)/GO(-)]_3-Au$
거칠기 R_q (평균)	1.35 nm	4.49 nm	4.04 nm
기준 편차	0.13 nm	0.67 nm	0.51 nm

[0060]

[0061] 상기 표 1에 요약된 것처럼, 하이드라진 처리 후, 샘플의 평균 표면 거칠기는 4.49 ± 0.67 nm에서부터 4.04 ± 0.51 nm까지 약간 감소되었다. GO(+)/GO(-) 샘플의 더 거친 표면은 더 높은 층간의 간격을 야기하는 GO(-)에서 산소를 포함하는 작용기와 GO(+)에서 아민기의 존재의 결과라고 간주할 수 있다. 반면, rGO 층은, 작용기가 하이드라진에 의해 부분적으로 제거되었고, 따라서 부드러운 표면을 가진 약간 밀도가 높아진 층이 취득되었다. 환원 후에 표면 모폴로지에서는 이러한 변화는 H_2 분위기에서 1,000℃로 열처리한 후의 층상 조립된 GO에서와 유사하게 관찰되었다. 도 2의 (a)에서 SPR 각도 곡선에서 나타난 것과 같이, 이것은 표면 범위에서 증가를 이끄는 층상 증착을 반복하는 SEM 이미지에 의해 관찰되었다[도 6의 (a) 내지 (c)]. 특히, 큰 크기를 가진 GOs의 비교적 균일한 증착은 $[GO(+)/GO(-)]_3-Au$ 의 샘플에서 관찰되었다[도 7의 (a)]. GO-Au 복합체에서 기록의 흥미로운 특징은 그들의 SPR 각도 스캔 곡선은 나노구조가 포함된 Au 필름 샘플에서 매우 혼한 어떠한 스캔 곡선의 넓어짐이 거의 나타나지 않았다는 것이다. 매우 민감한 SPR 센싱 소자를 위해서는, 더 작은 반치폭(full width at half maximum, FWHM) 값과 더 깊고 더 좁은 공명 스펙트럼이 유리하다. 그래핀의 원자 수준의 두께 때문에, 곡선의 넓어짐과 SPR 각도 위치에서 반사율의 증가는 거의 관찰되지 않고, 순수 Au 필름만큼 높은 분해능과 최소 감도(figure of merit, FOM)를 유지한다[도 7의 (b)]. SPR 센서의 FOM은 하기 식(1)로서 Liu 등에 의해 증명된다.

$$FOM = \frac{\Delta R}{R_c} \frac{1}{FWHM} \quad (1)$$

[0062]

[0063]

여기서 ΔR 은 임계각과 공명 각 사이의 반사율 차이이고, R_c 는 임계각에서 반사율이다. $[GO(+)/GO(-)]_3-Au$ 의 경우, 수용액 환경에서, 이것의 FOM은 본 시스템에서 0.194로 측정되었고, 반면 수용액 환경에서 순수 Au 필름의 SPR 곡선은 GO 증착된 샘플과 비교할 만한 0.21의 FOM을 나타냈다.

[0064]

<벌크 굴절률 민감도>

[0065]

종래 연구는 그래핀이 두 요소에 의해 민감도를 향상시킬 수 있다는 것을 밝혀냈다; i) 넓은 표면적으로 인한 생체분자의 부착 증가 및 ii) 전자기장 증가. 수용체의 어떠한 부착과 흡착 효율과 관계 없는 매질의 단순히 변화하는 RI에 의해 벌크 굴절률(RI) 센싱을 증명함으로써, GO 및 rGO의 전자기의 기여는 분리될 수 있다. 벌크 RI 민감도를 연구하기 위해서, GO-Au 또는 rGO-Au 하이브리드 샘플은 SPR 분광계로 도입될 수 있고, 수성 글루코오스 용액의 농도가 변화함에 따른 SPR 각도 이동이 측정되었다[도 9의 (a) 내지 (c), 도 10의 (a) 내지 (e), 도 11의 (a) 내지 (e), 및 도 12]. RI 민감도는 도 9의 b에서 그래프의 기울기에 상응하는 RI에서의 변화에 의해 분리된 SPR 각도의 이동으로서 증명되었다. GO 및 rGO를 포함하는 모든 샘플의 RI 민감도는 도 9의 (c)에서 증착 수의 함수로서 순수 Au 필름과 비교되었다. $L = 1, 3$, 및 4인 $[GO(+)/GO(-)]_L-Au$ 와 [환원된 $GO(+)/GO(-)]_1-Au$ 는 균일한 Au 필름($145.34 \pm 0.329 \text{ deg RIU}^{-1}$)보다 더 높은 민감도(각각 147.11 ± 0.273 , 150.38 ± 0.314 , 145.71 ± 0.310 , 및 $149.43 \pm 0.504 \text{ deg RIU}^{-1}$)를 나타냈다. 이들 중에서, $[GO(+)/GO(-)]_3-Au$ 샘플은 순수 Au 기판보다 3.45% 더 높은 $150.38 \pm 0.314 \text{ deg RIU}^{-1}$ 의 RI 민감도를 가진 가장 높은 민감도를 나타냈다. GO 증착된 샘플에서 L과 RI 민감도 사이의 명확한 상관 관계는 없었다. [환원된 $GO(+)/GO(-)]_L-Au$ 샘플의 경우, RI 민감도에서 급격한 하향세는 L이 1 보다 클 때 도 9의 (c)에 나타났고, 이것은 그래핀 층 수의 증가에 따른 민감도의 감소에서 수반되는 플라즈몬의 감쇠를 유도하는 그래핀의 영이 아닌 가상의 유전 상수를 설명하는 종래 이론적 연구와 일치한다. 본 시스템의 민감도는 50 내지 100 deg RIU^{-1} 의 전형적인 RI 민감도를 나타내는 Kretschmann 구성을 가진 종래 SPR 센서와 비교하면 더 높고, 이것은 GO 및 rGO 증착된 샘플의 향상된 RI 민감도는 그래핀의 광학적 특성에 기여한다는 것이 명백하게 증명된다. 또한 Xing 등은 프리즘의 맨 위에 그래핀의 4 층이 횡방향 자기(transverse magnetic, TM) 모드 민감도 양상을 나타낸 것을 증명하였고, 이것은 입사광과 RI 센싱 능력을 가지는 공명 조건에서 Au 박막과 유사하다. 이것은 프리즘 및 미디어의 계면에서 그래핀 플라즈몬이 전달하고, 환경의 RI에 민감한 표면장이 생성되는 것을 반영한다. 이와 관련하여, 이것은 RI 민감도 향상이 전달하는 SPR, 즉, 표면 공명 폴라리톤, 및 그래핀 플라즈몬 사이의 결합으로부터 파생된다는 결론을 낼 수 있다.

[0066]

<BSA-항-BSA 면역반응 센싱>

[0067]

생체분자 센싱은 소 혈청 알부민(BSA) 및 항-소 혈청 알부민(anti-BSA) 항체를 사용하여 더 증명되었다[도 13의 (a) 내지 (d)]. 대조 실험은 그래핀 산화물 표면을 모방하기 위해 및 BSA 부착을 촉진시키기 위해 24 시간 동안 메르캅토프로피온산(mercaptopropionic acid, MPA) 1 mM에 침지시킨 Au 필름으로 수행되었다. BSA는 먼저 샘플 표면에 주입되었다. 표면에 BSA의 흡착은 in-situ 운동 측정에 의해 관찰되었다[도 13의 (b) 및 (d), 황색 곡선]. 두 샘플 모두에서, 센싱 챔버 내로 BSA를 주입한 후에 증가된 반사율이 실시간으로 관찰되었다. 행굼 단계는 부적절하게 결합된 단백질을 제거하기 위해 적용되었고, 그 결과 대조 및 GO 샘플에 대하여, 각각 운동 측정으로부터의 반사율 3.3% 및 2.5% 증가와 스캔 모드 측정에서의 SPR 각도 이동 0.10° 및 0.09° 를 나타냈다[도 13의 (a) 및 (c), 황색 곡선]. 그 후 항-BSA 항체가 항-BSA 항체 및 BSA 사이의 키네틱 결합을 관찰하기 위해 도입되었다. 도 13의 (d)(청색 곡선)에 나타난 바와 같이, 반사율에서 약 6%의 급격한 증가는 높은 친화력을 가진 항원-항체 반응 때문에 GO 샘플로부터 수득된다[항체의 분자량(약 160 kDa)이 BSA의 분자량(66 kDa)보다 더 크다는 것을 나타냄]. $[GO(+)/GO(-)]_3-Au$ 샘플은 $1,430 \text{ pg mm}^{-2}$ 의 질량 민감도에 상응하는 0.2° SPR 각도 이동을 포함하는 $6 \mu\text{g/mL}$ 항-BSA 항체를 감지할 수 있는 것을 확인하였고, 이는 본 시스템이 1 mdeg의 각

도 민감도에 대해 약 7.15 pg mm^{-2} 의 감지 성능을 보이는 것을 나타낸다. 그러나, 대조 샘플에 대해 키네틱 측정에서 반사율의 단 0.5% 증가[도 13의 (b), 청색 곡선]와 SPR 각도 이동의 0.06° 증가[도 13의 (a), 청색 곡선]를 나타내었다. 두 센서 칩에서 BSA 결합 단계에 대한 SPR 각도 이동은 유사했다. 그러나 $[\text{GO}(+)/\text{GO}(-)]_3\text{-Au}$ 칩은 대조 샘플보다 항-BSA 항체 감지에서 3.33 배 더 높은 민감도를 나타내었다. 이것은, 항-BSA 항체 감지에 관하여, 민감도에서 3.33-배 향상은 다음과 같은 그래핀의 시너지 효과를 통해 달성되었다는 것으로 추측되었다: i) Au 필름과의 그래핀 플라즈몬 결합 및 ii) 증가된 흡착 효율.

[0068]

요약하면, GO 및 rGO는 층상 조립에 의해 금(Au) 필름 상에 도입되었고, 그들의 RI 증가에 따른 효과는 체계적으로 연구되었다. 최근의 그래핀을 포함하는 SPR 센서 칩 개발은 주로 수용체 분자의 향상된 부착에 집중되었고 그래핀 층은 이론적 연구에서 유전체 물질로서 여겨졌다. 그러나, 본원에서는, 그래핀 플라즈몬은, 표면 플라즈몬 폴라리톤과 결합한 표면장 강도의 향상 및 확대된 길이를 야기한다. 상기 효과는 그래핀의 넓은 표면적과 생체분자의 향상된 흡착 효율과 같은 다른 요소가 배제되는 동안에 향상된 RI 민감도에 의해 관찰됨으로써 지지되었다. 그래핀 플라즈몬과 표면 플라즈몬 폴라리톤의 결합은 Au 필름 상에 층상 조립된 GO와 그에 따른 rGO를 용이하게 증착함으로써 종래 SPR 센서보다 더 높은 민감도를 유도했다. 게다가 GO의 반복적인 증착 이후에도 FOM은 거의 유지되었음을 확인하였다. 층상 조립된 다중 층 샘플 중에서, $[\text{GO}(+)/\text{GO}(-)]_3\text{-Au}$ 샘플은 RI 센싱에서 $150.38 \pm 0.314 \text{ deg RIU}^{-1}$ 의 우수한 성능을 나타냈고, 면역 반응 센싱은 또한 대조 샘플과 비교하여 3.33-배 향상된 1 mdeg 각도 민감도에 상응하는 항-BSA 항체에 대한 7.15 pg mm^{-2} 의 질량 민감도를 가지고 수행되었다.

[0069]

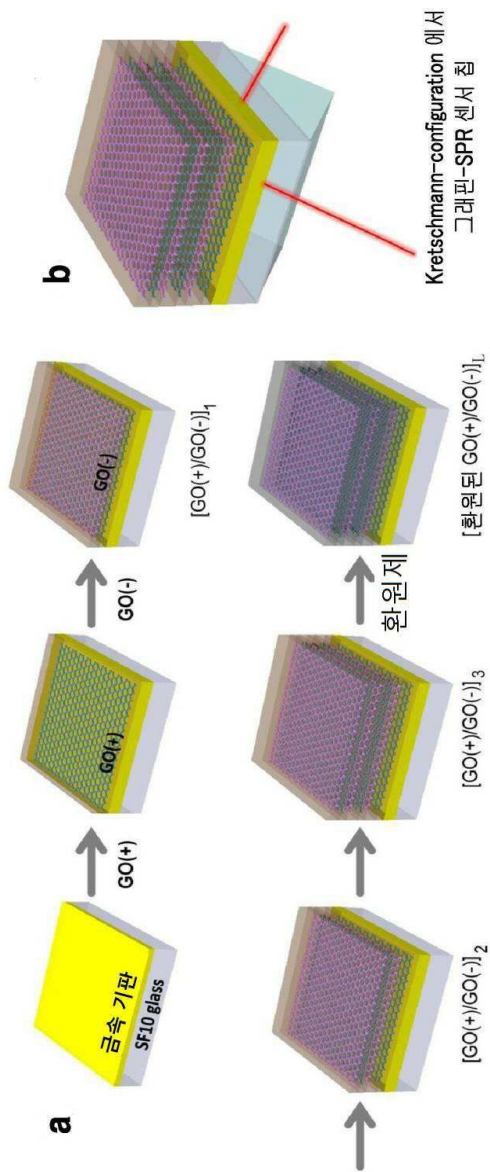
전술한 본원의 설명은 예시를 위한 것이며, 본원이 속하는 기술분야의 통상의 지식을 가진 자는 본원의 기술적 사상이나 필수적인 특징을 변경하지 않고서 다른 구체적인 형태로 쉽게 변형이 가능하다는 것을 이해할 수 있을 것이다. 그러므로 이상에서 기술한 실시예들은 모든 면에서 예시적인 것이며 한정적이 아닌 것으로 이해해야만 한다. 예를 들어, 단일형으로 설명되어 있는 각 구성 요소는 분산되어 실시될 수도 있으며, 마찬가지로 분산된 것으로 설명되어 있는 구성 요소들도 결합된 형태로 실시될 수 있다.

[0070]

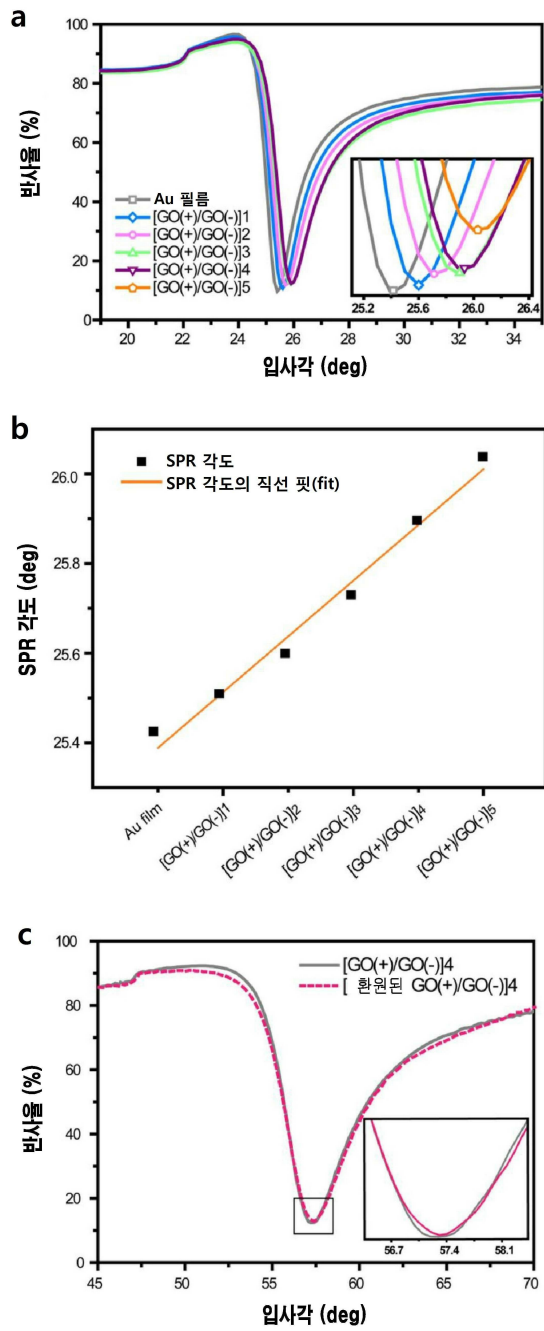
본원의 범위는 상기 상세한 설명보다는 후술하는 특허청구범위에 의하여 나타내어지며, 특허청구범위의 의미 및 범위 그리고 그 균등 개념으로부터 도출되는 모든 변경 또는 변형된 형태가 본원의 범위에 포함되는 것으로 해석되어야 한다.

도면

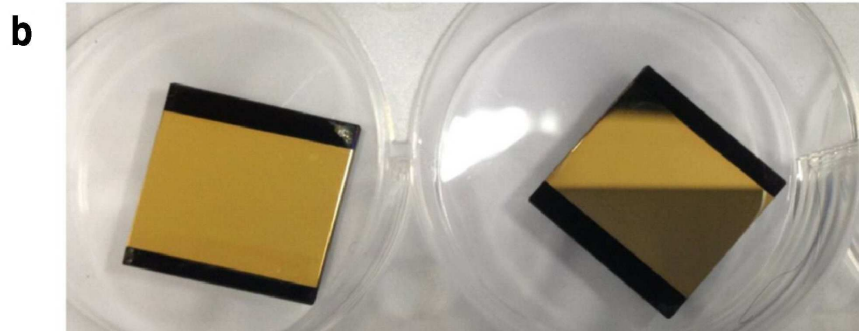
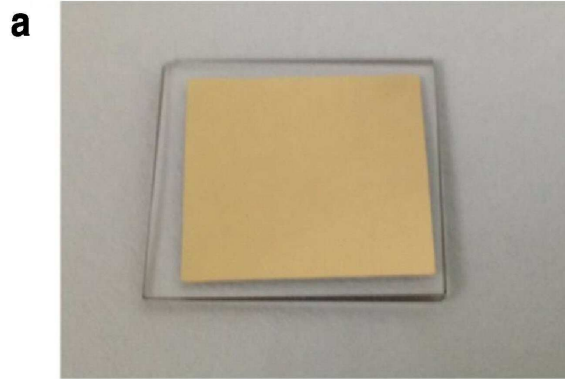
도면1



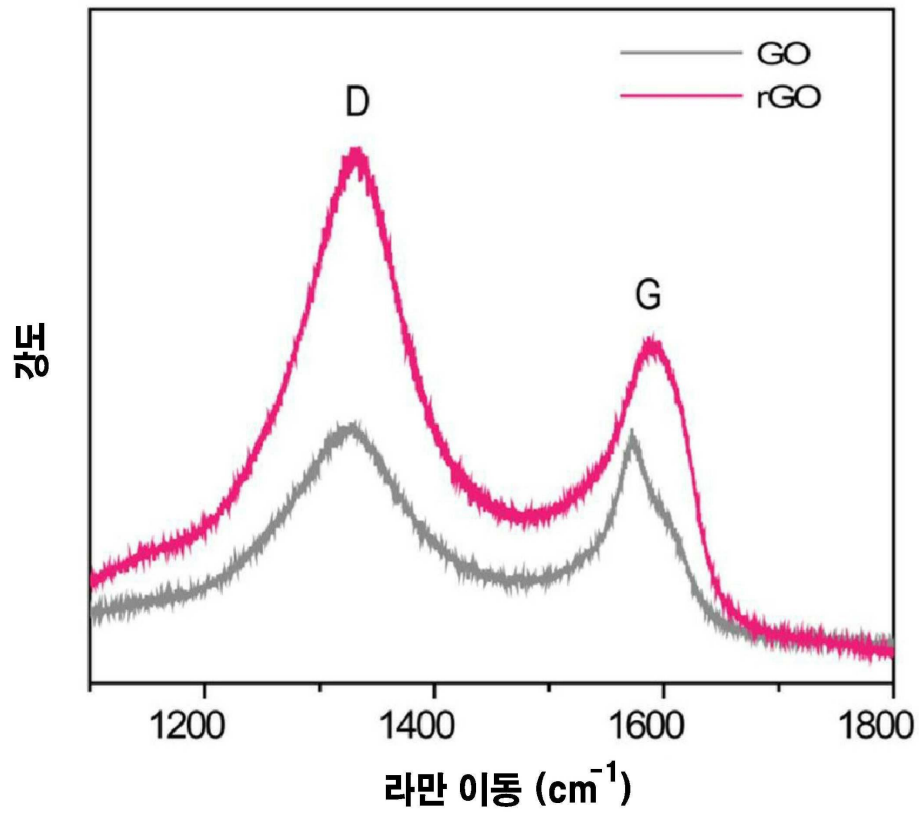
도면2



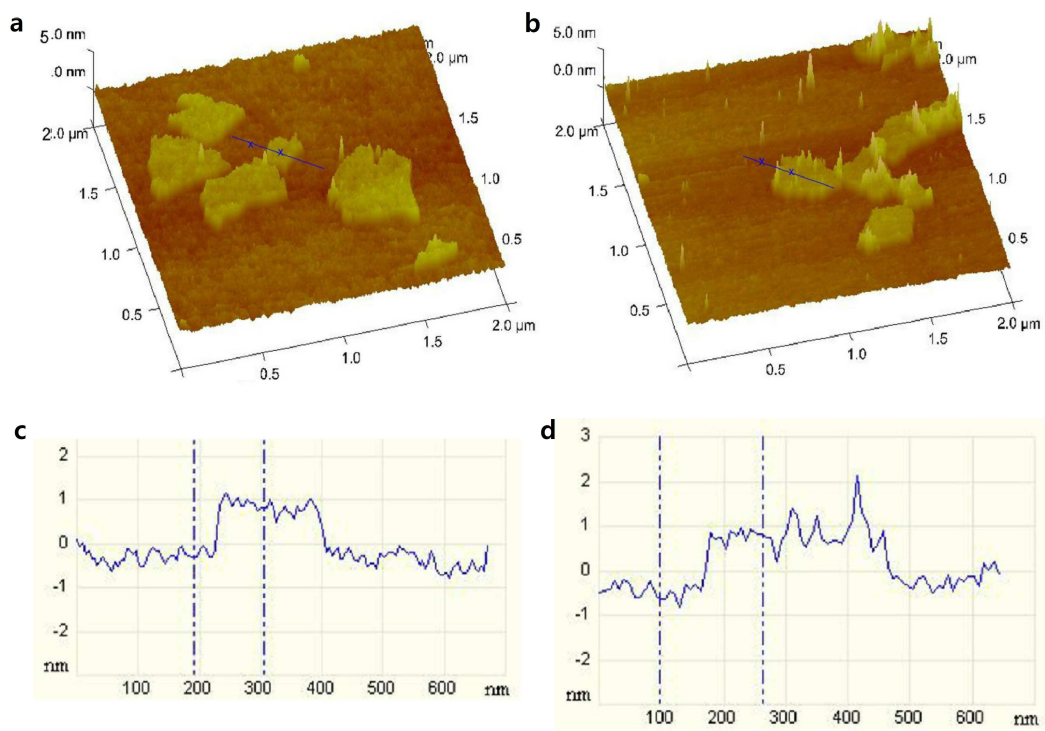
도면3



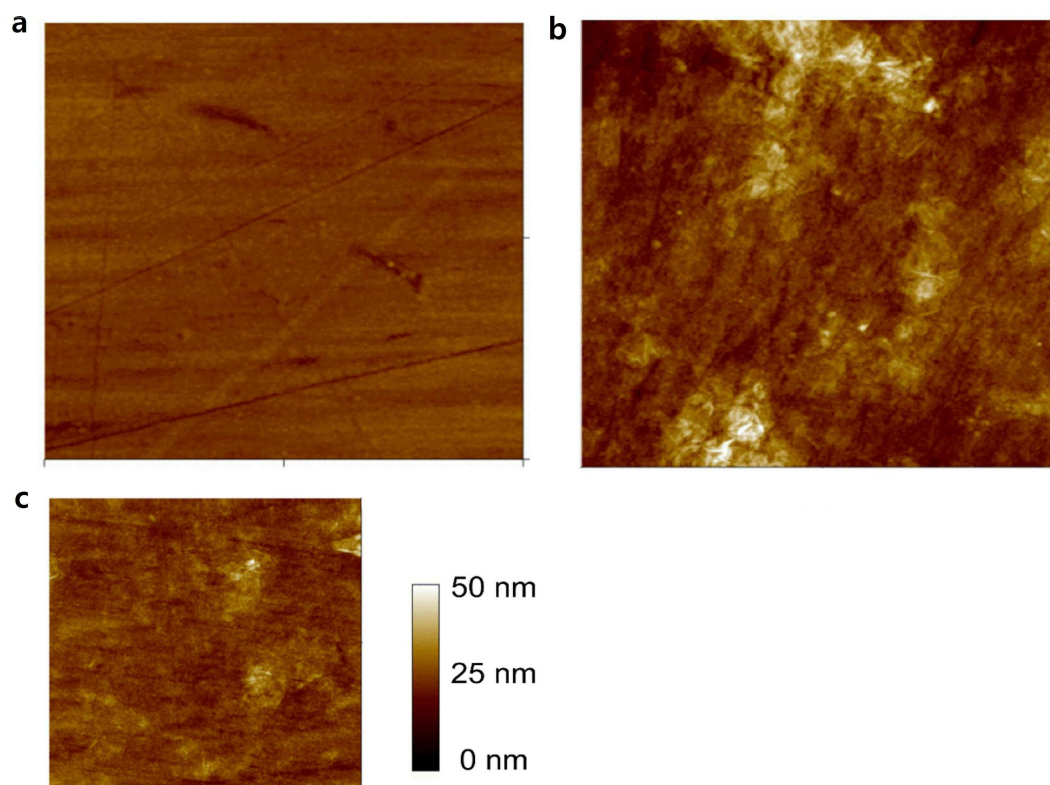
도면4



도면5

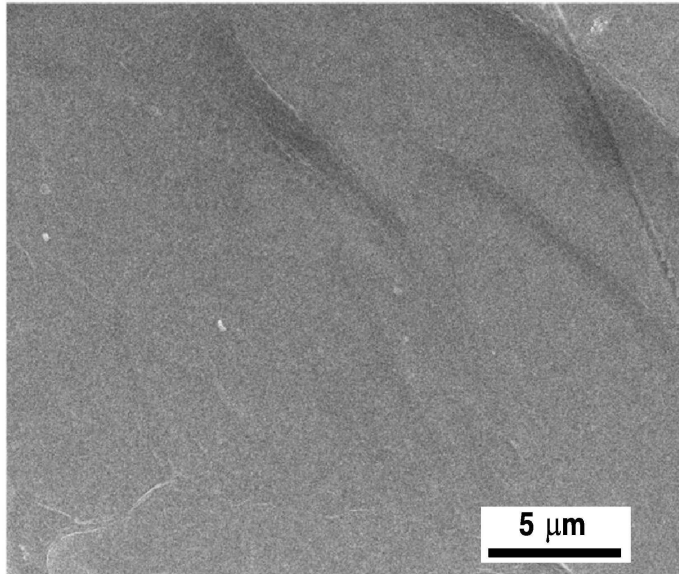


도면6

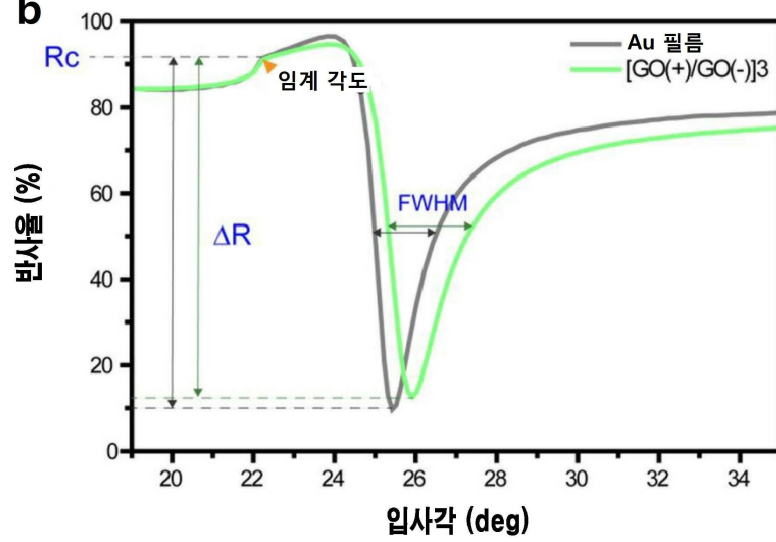


도면7

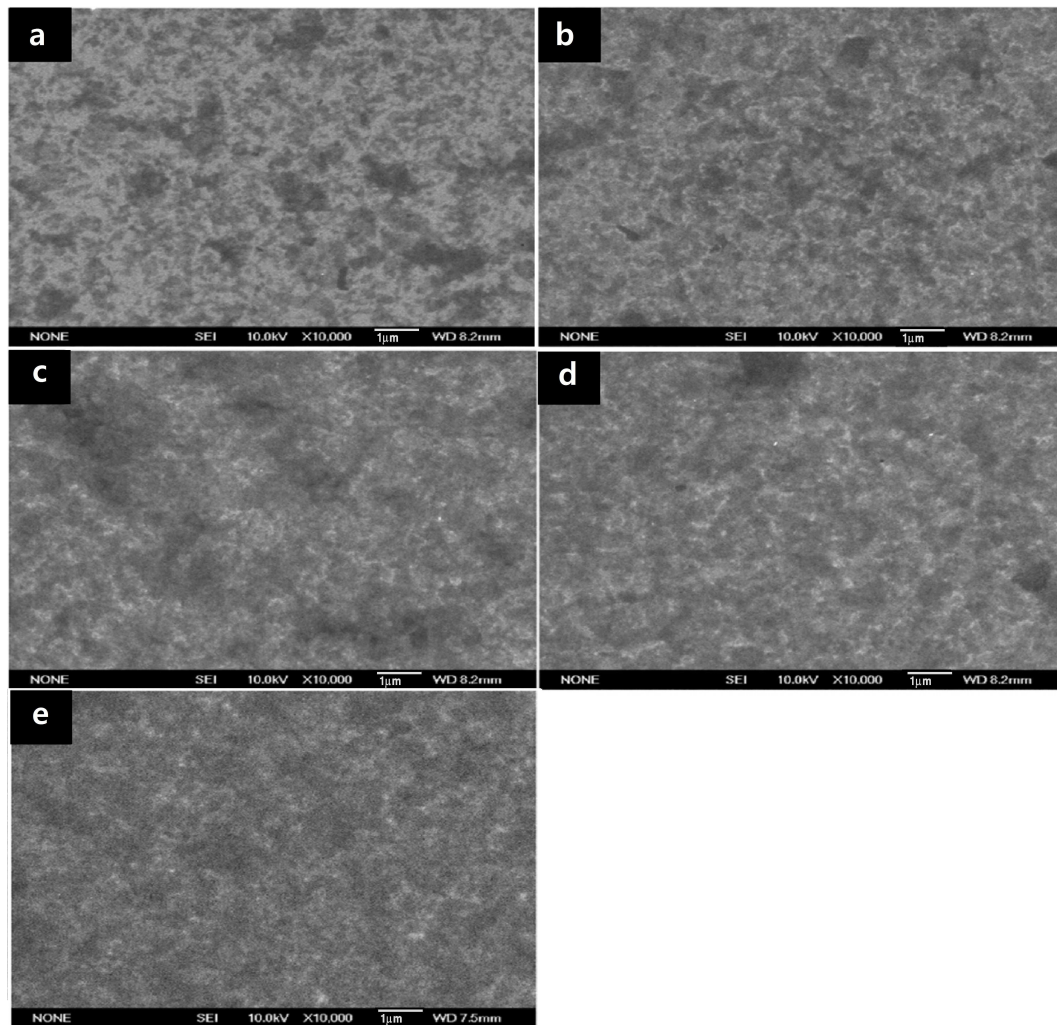
a



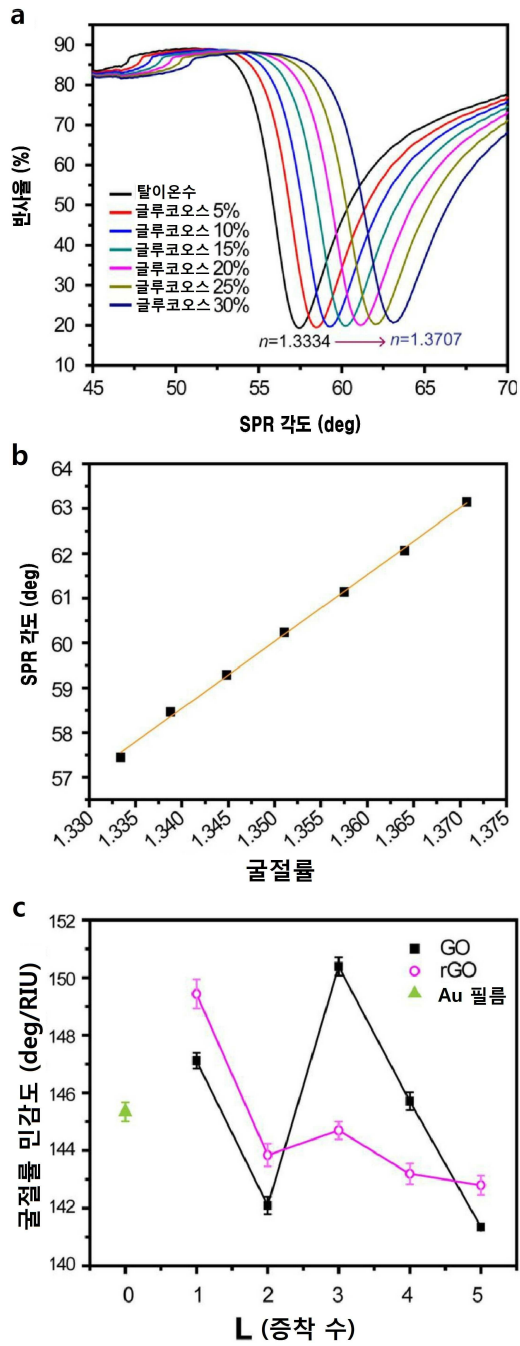
b



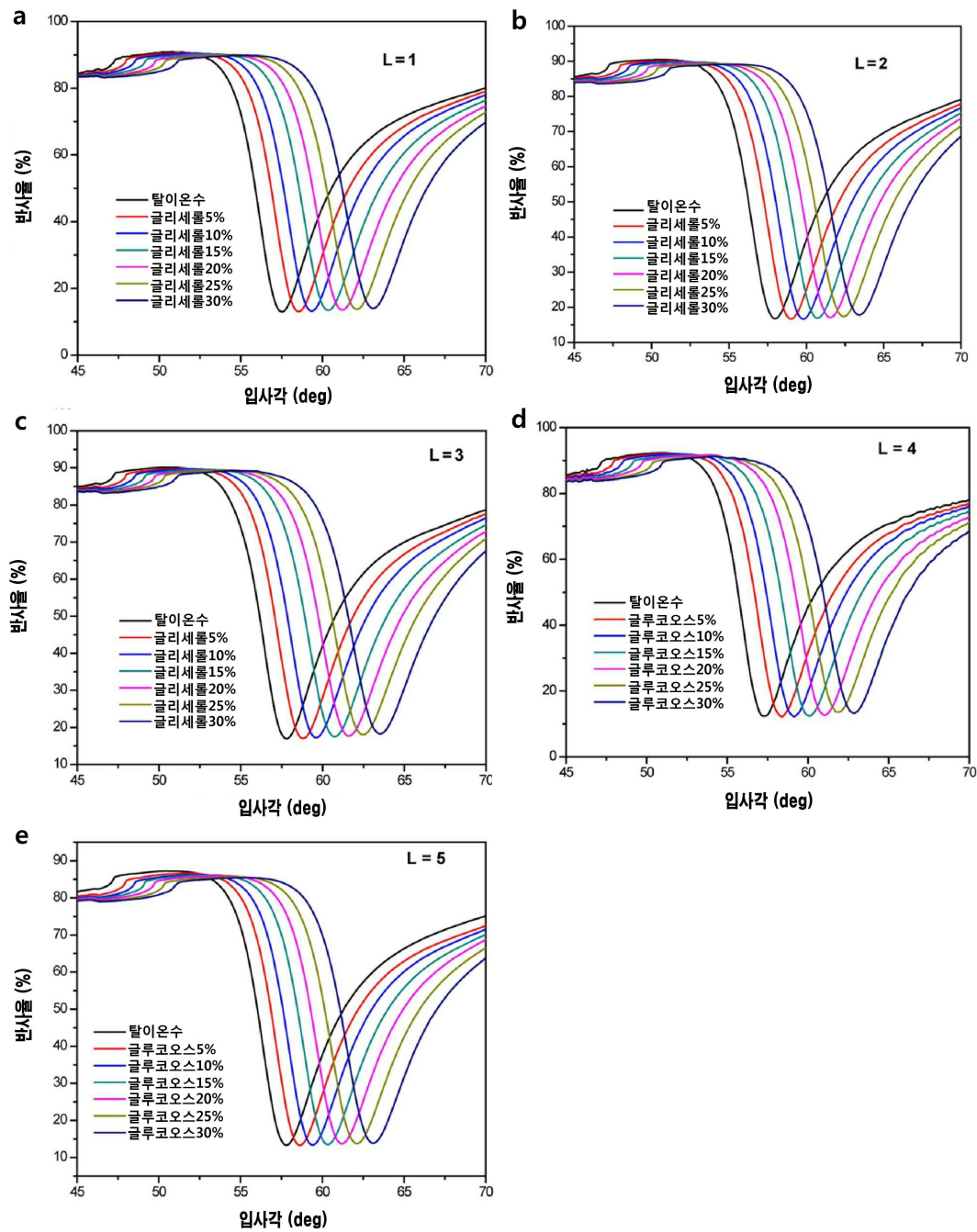
도면8



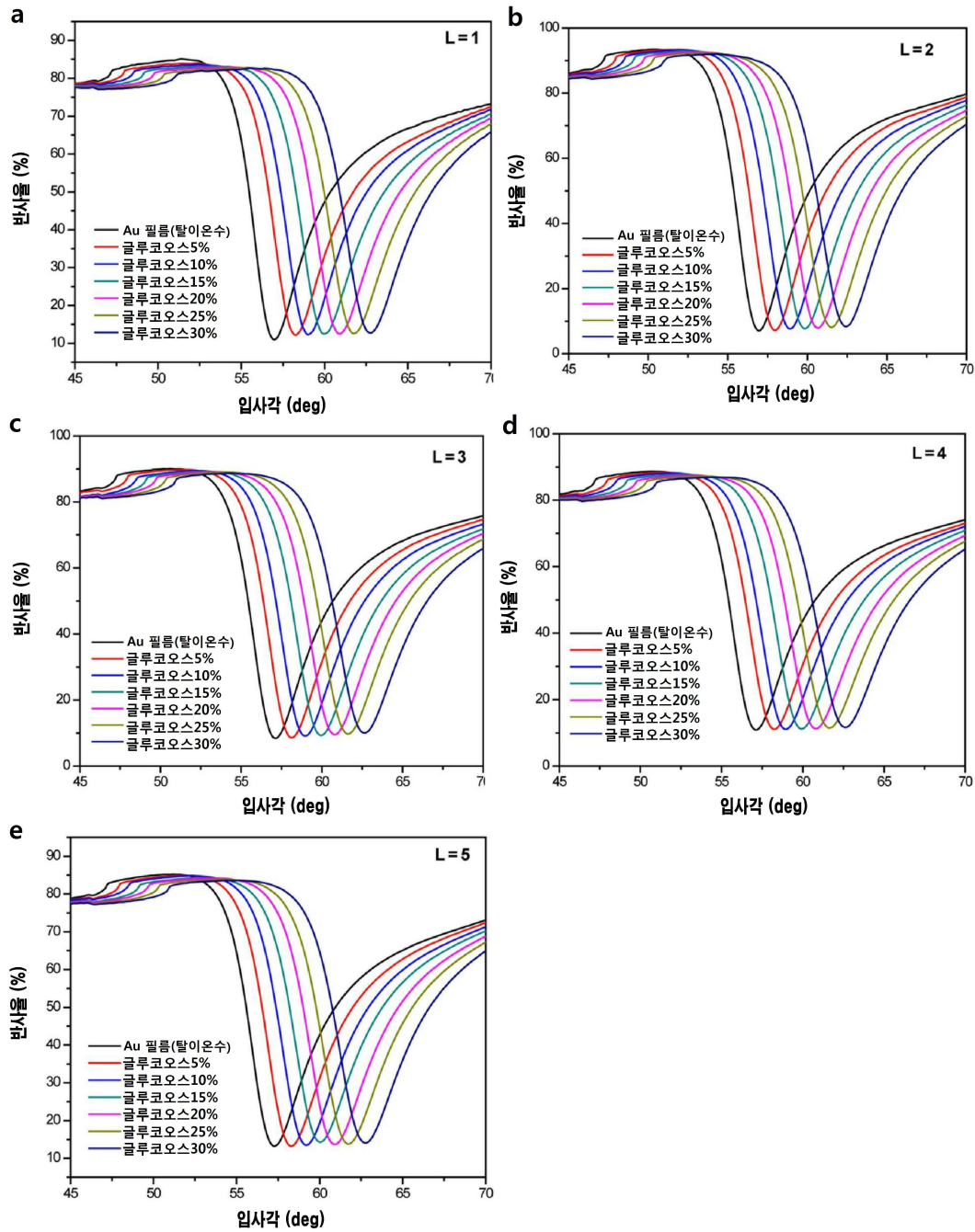
도면9



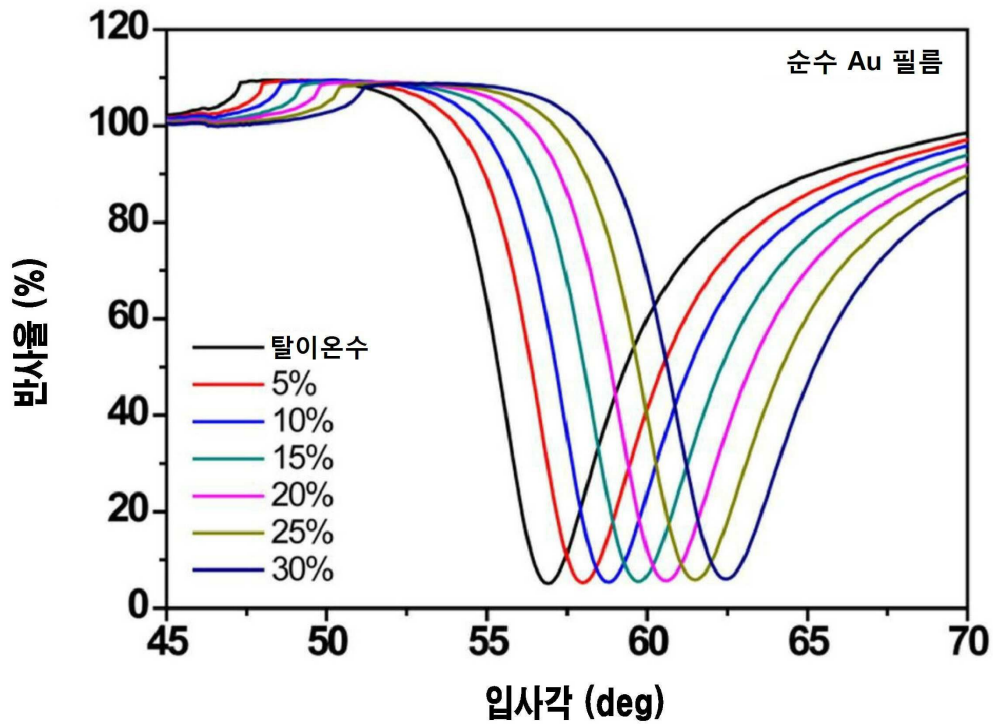
도면10



도면11



도면12



도면13

