(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0085579
(43) 공개일자 2013년07월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 21/65 (2006.01) *G01N 33/68* (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2012-0006445
(22) 출원일자 2012년01월20일
심사청구일자 2012년01월20일

(71) 출원인
서강대학교산학협력단
서울특별시 마포구 백범로 35 (신수동, 서강대학교)
(72) 발명자
강태욱
서울특별시 마포구 창전동 서강한화오벨리스크스위트 103-1502
한혜수
서울특별시 중구 신당4동 약수하이츠아파트 111동 1902호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
문환구

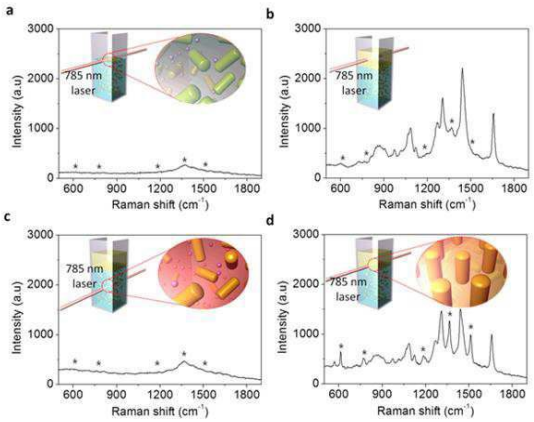
전체 청구항 수 : 총 15 항

(54) 발명의 명칭 **표면증강라만분광 활성 입자를 이용한 액상-액상계면에서의 분석물 검출 방법**

(57) 요 약

본원은 액체 상태에서 표면증강라만분광법을 이용하여 시료 중의 분석물을 검출하는 방법을 개시하며, 구체적으로 친수성 액상-친유성 액상 계면에서의 표면증강라만분광 활성 나노입자의 배열을 통해 분석물을 계면상에 농축하여, 시료 중에 존재하는 분석물을 검출하는 방법 또는 키트를 제공한다. 본원의 방법은 특히, 시료 중에 극미량 존재하는 생물학적 고분자 물질, 특히 용액 중에서 3차원 구조를 형성하며 브라운 운동에 의해 검출 감도가 낮은 극미량으로 존재하는 물질의 검출에 특히 유용하며, 별도의 표지없이도 분자를 검출할 수 있어 편리하다.

대 표 도 - 도3a



(72) 발명자

이치원

서울특별시 은평구 녹번동 278-1 현대2차아파트 201-1602호

김기훈

서울특별시 동작구 사당5동 삼호그린아파트 101동 302호

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호	201133041
부처명	교육과학기술부
연구사업명	21세기 프론티어 연구개발사업
연구과제명	바이오의학 응용을 위한 스마트 플라스몬 나노구조의 설계, 제작 및 응용플랫폼 개발
주관기관	한국과학기술연구원
연구기간	2011.04.01 ~ 2012.03.31

특허청구의 범위

청구항 1

친수성 액상-친유성 액상 계면에서의 SERS 활성 나노입자의 배열을 이용한 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법.

청구항 2

제 1 항에 있어서, 상기 SERS 활성 나노입자는 금속으로, 상기 금속은 Ag, Au, Cu, Pt, Al, Fe, Co, Ni, Ru, Rh, 및 Pd 로 구성되는 군으로부터 선택되는, 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법.

청구항 3

제 2 항에 있어서, 상기 금속은 나노 로드이고, 상기 금속 나노 로드는 상기 친수성 액상-친유성 액상 계면에 대하여 수직으로 배열되는 것인, 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법.

청구항 4

제 3 항에 있어서, 상기 로드의 종횡비는 1:0.1 내지 1:10인, 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법.

청구항 5

제 3 항에 있어서, 상기 금속 나노 로드의 길이는 1nm 내지 500nm인, 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법.

청구항 6

제 1 항에 있어서, 상기 분석물은 생물학적 시료에 포함된 생체분자로서, 탄수화물, DNA, RNA 또는 단백질인 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법.

청구항 7

친수성 액상-친유성 액상 계면에서의 SERS 활성 나노입자의 배열을 통한 분석물 존재 또는 농도 검출 방법으로, 상기 방법은

친수성 또는 친유성의 SERS 활성 나노 입자 분산액을 제공하는 단계;

상기 분산액에 분석물을 추가 하는 단계; 또는

대안적으로,

상기 분석물을 포함하는 시료를 제공하는 단계;

상기 시료에 금속 나노로드를 첨가하는 단계;

상기 분석물과 SERS 활성입자의 분산액의 혼합물에 친유성 또는 친수성 물질을 첨가하는 단계로, 이 경우 상기 분산액이 친유성인 경우, 친수성 물질을, 분산액이 친수성인 경우, 친유성 물질을 첨가하며, 이로 인해, 상기 친유성과 친수성 물질 간에 액상-액상 계면이 형성되고, 상기 액상-액상 계면에 상기 금속 나노로드가 수직으로 배열되고,

SERS 활성의 유도에 필요한 파장으로 레이저를 상기 액상-액상 계면에 상기 계면과 수평으로 조사하는 단계; 및

상기 SERS 신호를 검출하여, 상기 분석물의 농도 또는 존재를 결정하는 단계를 포함하는, 분석물 존재 또는 농도 검출 방법.

청구항 8

제 7 항에 있어서 상기 레이저는 편광각이 90도인, 분석물 존재 또는 농도 검출 방법.

청구항 9

제 7 항에 있어서, 상기 분석물은 양친매성인 경우 상기 액상-액상 계면에 에 농축되는, 분석물 존재 또는 농도 검출방법.

청구항 10

제 7 항 에 있어서, 상기 SERS 활성 나노 입자는 금속으로 Ag, Au, Cu, Pt, Al, Fe, Co, Ni, Ru, Rh, 및 Pd로 구성되는 군으로부터 선택되는, 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법.

청구항 11

제 10항에 있어서, 상기 금속은 나노 로드이고, 상기 금속 나노 로드는 상기 친수성 액상-친유성 액상 계면에 대하여 수직으로 배열되는 것인, 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법.

청구항 12

제 11 항에 있어서, 상기 금속 나노 로드의 종횡비는 1:0.1 내지 1:10 인 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법.

청구항 13

제 12 항에 있어서, 상기 금속 나노 로드의 길이는 1nm 내지 500nm인, 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법.

청구항 14

제 7 항에 있어서, 상기 분석물은 생물학적 시료에 포함된 생체분자로서, 카보하이드레이트, 폴리뉴클레오타이드 또는 단백질인 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법.

청구항 15

표면증강라만분광을 이용한 분석물 검출용 키트로, 상기 키트는 친수성 또는 친유성의 SERS 활성 나노 입자 분산액 및 선택적으로 친수성 또는 친유성 물질을 포함하며, 상기 친유성 또는 친수성 물질은 친수성-친유성 액상 계면이 형성될 수 있도록 상기 분산액에 첨가되는 것인, 표면증강라만분광을 이용한 분석물 검출용 키트.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 표면증강라만분광 활성 입자를 이용하여 물질을 분석하는 분야에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 세포내 존재하는 각종 분자에 대한 탐지는 세포의 지문 정보를 통해 세포 내의 보다 정확한 동정 및 정적인 정보를 제공하여, 시스템생물학이나, 신약개발 등에 중요한 토대를 마련하는데 중요하다.

[0003] 알려진 검출 방법의 하나로 나노 플라즈몬 구조체를 이용한 각종 극미량 분자 탐지 및 분석시스템이 있다. 표면 플라즈몬(Surface Plasmon)이란 금속과 유전체의 경계면을 따라 진행하는 표면 전자기파를 의미한다. 이러한 표면 플라즈몬은 금속의 표면이나 구조의 변화에 따라서 강화시킬 수 있으며, 이것은 생물학적 분자 분석 기술 및 광소자 개발에 응용될 수 있다.

[0004] 표면 플라즈몬(Surface Plasmon)의 한 예인 국소 표면 플라즈몬 공명(LSPR: Localized Surface Plasmon Resonance)은 금속 나노 입자의 크기와 모양, 그리고 주변 매질의 분산특성(dispersion properties)에 따라 입사광의 에너지를 선택적으로 흡수, 산란하는 현상을 말한다. 이것은 빛 에너지가 표면 플라즈몬에 흡수, 변환되고 금속 나노 입자 표면에 형성된 전기장은 국소적으로 크게 왜곡, 강화되었음을 뜻하며, 빛의 회절 한계

보다 작은 영역, 즉 근접장(nearfield)에서 광 제어가 가능함을 의미하기도 한다.

[0005] 표면 플라즈몬(Surface Plasmon)의 다른 예인 라만 분광 효과(Raman Spectroscopy)는 분자의 진동수(vibrational frequencies)에 관한 정보를 이용하여 물질을 검출하는 물질에 대한 특이성 및 민감도가 아주 높은 방법이다. 특히 표면 증강라만분광(SERS: Surface Enhanced Raman Spectroscopy)은 금속 표면 근처에 분자가 있을 경우 라만(Raman) 신호가 크게 증가하는 현상으로 금, 은 등의 금속 나노구조 표면에 분자가 흡착될 때 라만산란의 세기가 급격히 10^{6} ~ 10^{8} 배 이상 증가되는 현상을 이용한 것이다. 나노 기술과 결합하여 단 하나의 분자를 직접 측정할 수 있는 고감도의 기술로 발전할 가능성이 있어, 특히 바이오 물질을 검출하기 위한 센서로서 긴요하게 쓰일 것으로 기대된다.

[0006] 미국특허 제7929133호는 SERS에 사용되는 나노 구조체 센싱 장치에 관한 것으로, SERS에 활성을 갖는 나노 표면 및 상기 표면위에 존재하는 SERS에 불활성인 흡착표면을 포함하는 장치를 개시한다.

[0007] 한국특허 공개특허공보 10-2011-0039170호는 나노 스페이서를 이용한 광학 센서 및 광학 센서를 이용한 검출 방법에 관한 것으로, 검출하고자 하는 물질사이에 결합되고, 외부 자극에 따라 크기가 가역적으로 변하는 나노 스페이서를 개시한다.

[0008] 한국 등록특허공보 제0892629호는 표면증강라만분광용 광 센서에 관한 것으로 단결정의 귀금속 나노와이어를 포함하고, 귀금속 박막과 귀금속 나노와이어의 접점 또는 개별 귀금속 나노와이어 사이의 접점에서 형성된 강한 국소전기장 (핫 스팟, hot spot)에 의하여 표면 증강 라만 산란 신호를 증강하는 방법에 관하여 개시한다.

[0009] 하지만 이러한 방법으로 물질을 검출하기 위해서는 복잡한 미소유체계나 복잡한 구조를 갖는 나노입자의 합성이 선행되어야 하나, 제작과정이 복잡하고, 어려운 문제가 있어, 실용화되기가 어려운 것이 현실이다. 또한 하지만 세포내 고분자 물질의 탐지, 특히 고분자 물질로서, 용액 중에서 3차원 구조를 형성하는 단백질, 핵산과 같은 물질은, 극미량으로 존재할 뿐아니라, 용액 중에서 브라운 운동에 의해 검출 감도가 매우 낮고, 감도를 놓이기 위해 검출 시간이 오래 걸리는 문제점이 있다.

[0010] 따라서 이러한 복잡한 구조체의 사용이나, 나노 입자의 합성이 필요하지 않으면서도 용액 중에서 직접 극미량 존재하는 생물학적 물질을 SERS를 이용해서 검출가능한 방법의 개발이 필요하다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0011] 본원은 상기 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로, 액상-액상 계면에서의 금속 나노 입자와 같은 SERS 활성 입자의 배향을 통하여 광학적 분자 검출시스템, SERS의 감도를 향상시키고자 하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0012] 본원은 친수성 액상-친유성 액상 계면에서의 SERS 활성 나노입자의 배열을 이용한 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법을 제공한다.

[0013] 본원은 또한 본원의 SERS 활성 나노입자는 금속으로, 상기 금속은 Ag, Au, Cu, Pt, Al, Fe, Co, Ni, Ru, Rh, 및 Pd 로 구성되는 군으로부터 선택되는 하나이상인, 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법을 제공한다.

[0014] 본원은 또한 본원의 금속은 나노 로드이고, 상기 금속 나노 로드는 상기 친수성 액상-친유성 액상 계면에 대하여 수직으로 배열되는 것인, 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법을 제공한다.

[0015] 본원은 또한 본원에 사용되는 로드의 종횡비는 약 1:0.1 내지 약 1:10인, 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법을 제공한다.

[0016] 본원은 또한 본원에 사용되는 금속 나노 로드의 길이는 1nm 내지 500nm인, 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법을 제공한다.

[0017] 본원은 또한 본원에 따른 분석물은 생물학적 시료에 포함된 생체분자로서, 탄수화물, DNA, RNA 또는 단백질인 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법을 제공한다.

[0018] 본원은 또한 친수성 액상-친유성 액상 계면에서의 SERS 활성 나노입자의 배열을 통한 분석물 존재 또는

농도 검출 방법을 제공하며, 상기 방법은 친수성 또는 친유성의 SERS 활성 나노 입자 분산액을 제공하는 단계; 상기 분산액에 분석물을 추가 하는 단계, 또는 대안적으로, 상기 분석물을 포함하는 시료를 제공하는 단계;상기 시료에 금속 나노로드를 첨가하는 단계; 상기 분석물과 SERS 활성입자의 분산액의 혼합물에 친유성 또는 친수성 물질을 첨가하는 단계로, 이 경우 상기 분산액이 친유성인 경우, 친수성 물질을, 분산액이 친수성인 경우, 친유성 물질을 첨가하며, 이로 인해, 상기 친유성과 친수성 물질 간에 액상-액상 계면이 형성되고, 상기 액상-액상 계면에 상기 금속 나노로드가 수직으로 배열되고, SERS 활성의 유도에 필요한 파장으로 레이저를 상기 액상-액상 계면에 상기 계면과 수평으로 조사하는 단계; 및 상기 SERS 신호를 검출하여, 상기 분석물의 농도 또는 존재를 결정하는 단계를 포함한다.

[0019] 본원은 또한 본원의 방법에 사용되는 레이저는 편광각이 90도인, 분석물 존재 또는 농도 검출 방법을 제공한다.

[0020] 본원은 또한 본원의 분석물은 양친매성인 경우 상기 액상-액상 계면에 농축되는, 분석물 존재 또는 농도 검출방법을 제공한다.

[0021] 본원은 또한 본원의 SERS 활성 나노 입자는 금속으로 Ag, Au, Cu, Pt, Al, Fe, Co, Ni, Ru, Rh, 및 Pd로 구성되는 군으로부터 선택되는, 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법을 제공한다.

[0022] 본원은 또한 본원의 금속은 나노 로드이고, 상기 금속 나노 로드는 상기 친수성 액상-친유성 액상 계면에 대하여 수직으로 배열되는 것인, 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법을 제공한다.

[0023] 본원은 또한 본원의 금속 나노 로드의 종횡비는 약 1:0.1 내지 1:10 인 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법을 제공한다.

[0024] 본원은 또한 본원의 금속 나노 로드의 길이는 약 1nm 내지 500nm인, 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법을 제공한다.

[0025] 본원은 또한 본원에 따른 분석물은 생물학적 시료에 포함된 생체분자로서, 카보하이드레이트, 폴리뉴클레오타이드 또는 단백질인 분석물의 존재 또는 농도 검출 방법을 제공한다.

[0026] 본원은 또한 표면증강라만분광을 이용한 분석물 검출용 키트를 제공하며, 상기 키트는 친수성 또는 친유성의 SERS 활성 나노입자 분산액 및 선택적으로 친수성 또는 친유성 물질을 포함하며, 상기 친유성 또는 친수성 물질은 친수성-친유성 액상 계면이 형성될 수 있도록 상기 분산액에 첨가되는 것이다.

발명의 효과

[0027] 본원의 친수성 액상-친유성 액상 계면에서의 표면증강라만분광 활성 나노입자의 배열을 통해 시료 중에 존재하는 분석물을 SERS를 이용하여 검출하는 방법 또는 키트를 제공한다. 이러한 본원의 방법은 (i) GNR과 같은 SERS 활성 나노 입자 위치와 방향을 결정할 수 있어, 이로 인한 재현성 향상과 (ii) SERS 신호 검출 전에 표면증강라만 분광 활성 기판이 필요없이, 액상에서 직접 SERS 신호를 수집할 수 있거나, 나노입자의 후처리 등과 같은 추가의 단계 없이 직접 SERS 신호를 수집할 수 있는 편리성이 증대된다.

[0028] 또한 본원의 방법은 양친매성 특징을 갖는 특정 분석물의 경우 액상 계면에서의 농축효과를 통해, 감도가 더욱 증가하여 시료 중에 극미량 존재하는 생물학적 고분자 물질, 특히 용액 중에서 3차원 구조를 형성하며 브라운 운동로 인해 검출 감도가 낮은 물질의 검출에 특히 유용하며, 또한 이러한 물질을 별도의 표지없이도 검출할 수 있는 기존과 비교하여 현저히 개선된 방법이다.

도면의 간단한 설명

[0029] 도 1a은 골드 나노로드(GNR)의 액상-액상 계면에서의 수직 배향을 나타내는 모식도이다.

도 1b은 GNR의 TEM사진(a)과 UV 흡광도 분석 결과를 나타낸다. GNR은 785nm에서 장축 플라즈몬 공명 현상을 나타낸다.

도 2a는 올레산-물 계면에서 GNR 배향과 관련된 이론적 계산을 나타내는 것으로 (a)는 계면에서의 GNR 배향 계산을 위한 계수 정의로, Θ는 GNR 장축과 계면사이의 각도이고, d는 GNR의 하단부터 상단까지의 거리이고, d_w는 GNR의 하단부터 계면까지의 거리이고, (b)는 GNR의 위치를 d_w/d=0%로 고정한 상태에서 Θ에 따른 계면에너지 계산 값을 나타내는 그래프이고, (c)는 Θ가 90도일 때 d_w/d 함수로서의 계면에너지 값을 나타내는 그래

프이고, (d)는 Θ와 d_w/d에 대한 계면에너지 계산값을 나타내는 그래프 이다.

도 2b는 공기-물 계면에서 GNR 방향을 이론적으로 계산한 것으로, (a)는 d_w/d=100% 인 경우에 계면 에너지는 에 의존하는 것을 나타내고, (b)는 d_w/d=0% 로 고정한 경우, d_w/d에 따른 계면 에너지의 변화를 나타내고, (c)는 및 d_w/d에 대하여 계면 에너지를 계산한 것이다.

도 3a는 (a) 공기-물 계면, (b) 올레산 층, (c) 물 층 및 (d) 올레산-물 계면에서의 위치 의존적 SERS 신호를 나타내는 것으로, 별표로 표시된 위치는 R6G의 라만 시프트를 나타내고 (도 3B 참조), 모든 SERS 스펙트럼은 올레산 첨가 직후 785nm 레이저를 평행으로 조사하여 수득하였으며, 250mW 레이저를 사용하였으며, 노출시간은 3초이었다.

도 3b는 SERS 활성화가 GNR의 방향에 의존적임을 나타내는 모식도이다.

도 4a는 레이져의 조사 조건에 의존하는 SERS 신호를 나타내는 것으로, (a)는 계면에서 레이져를 수직으로 조사한 경우 올레산-물 계면에서의 SERS 스펙트럼을 나타내고, (b)는 613.7 및 1512.7 cm^{-1}에서 편광각이 강도에 미치는 영향을 나타낸다. 화살표는 레이저의 편광 방향을 나타내며, 레이저는 평행광으로 조사되었고, 데이터는 5회 반복 실험의 평균값이고, 에러바는 표준편차를 나타내고, 250mW 레이저를 사용하였으며, 검출시간은 3초이었다.

도 4b는 99% R6G 분말(a)과 올레산 (b)의 라만 스펙트럼을 나타내며, 레이져 파워는 250mV, 검출시간은 100 milisec 이었다.

도 4c는 올레산-물 계면에서 R6G 농도의 변화에 따른 풀 SERS 스펙트럼을 나타낸다.

도 5는 액체 상태 SERS의 센싱 성능을 나타내는 그래프로, (a)는 R6G의 농도에 따라 613.7와 1512.7 cm^{-1}에서의 강도 변화를 나타내고, (b)는 GNR의 농도가 SERS 신호에 미치는 영향을 나타낸다. 농축인자 (preconcentration factor)는 제조된 상태의 GNR 용액과 대비하여 희석 또는 농도비를 나타내고, R6G의 농도는 1μM로 고정되었다. 모든 데이터는 5회 반복 실험의 평균값이며, 에러바는 표준편차를 나타내고, 250mW 레이저를 사용하였으며, 검출시간은 3초이었다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030] 본원은 액체 상태에서 표면증강라만산란을 측정하는 새로운 방법에 관한 것으로, 액상-액상 계면 에너지 조절을 통하여 액체 상태에서 표면증강라만산란 활성 나노입자가 계면상에 특정 배열을 취하도록 하고, 액체 상태에서 SERS 측정이 가능하다는 발견을 기초로 한 것이다. 또는 양친매성 물질의 경우, 계면으로의 분석물 농축이 가능하여 더욱 강한 표면증강라만산란 신호를 얻을 수 있다.

[0031] 한 양태에서 본원은 친수성 액상-친유성 액상 계면에서의 표면증강라만산란 활성 나노입자의 배열을 이용한 시료 중 분석물의 존재 또는 농도를 검출하는 방법에 관한 것이다.

[0032] 표면증강라만산란 (Surface Enhanced Raman Scattering) 또는 SERS는 라만 산란 신호 또는 강도가 라만 활성 분자 (분석물)가 예를 들면 금속 표면에서 약 50Å 거리에 근접해 위치하거나 또는 금속표면에 흡착되어 있는 경우, 라만 산란 신호가 증가하는 현상을 일컫는 것이다. 표면증강공명라만산란(Surface Enhnaced Resonance Raman Scattering) 또는 SERRS는 증가된 SERS 신호로 SERS 활성 나노입자 표면에 근접하여 위치하는 리포터 분자가 여기 파장과 공명이 일어날 때 생기는 현상이다.

[0033] 본원에서 SERS 활성 입자는 SERS 또는 SERRS을 유도 또는 야기 할 수 있는 입자를 일컫는 것으로, 활성 입자의 표면은 SERS 신호를 생산할 수 있는 것으로 , 예를 들면 거친 표면, 부드러운 표면, 특정 질감이 있는 표면 등을 포함하는 것이다.

[0034] 본원에서 SERS 활성 입자는 특히 SERS 활성 나노 입자를 일컫는 것으로 적어도 일차원의 크기가 가 약 1nm 내지 약 100nm (one dimension의 크기)이다.

[0035] 본원에 사용될 수 있는 SERS 활성 나노 입자는 하나 이상의 금속을 포함하며, 예를 들면 주기율표 상의 금속을 포함한다. 예를 들면 적절한 금속은 11족의 금속 예컨대 Cu, Ag, 및 Au과 SERS 유도할 수 있는 당업계의 공지된 금속, 예컨대 알칼리 금속을 포함한다. 예를 들면 본원에 사용될 수 있는 금속의 종류는 Ag, Au, Cu, Pt, Al, Fe, Co, Ni, Ru, Rh, 및 Pd를 포함하나, 이로 제한하는 것은 아니다. 한 구현예에서 금속은 골

드이며, 골드나노입자(Gold Nanoparticle), 특히 골드나노로드 (Gold Nano Rods, GNR)가 사용된다. 또한 본원에 사용될 수 있는 금속은 단일 또는 두 개 이상의 금속이 조합된 합금으로 사용될 수 있다. 금속 나노입자의 제조방법은 당업계에 공지되어 있으며, 예를 들면 Frens, G., Nat. Phys. Sci., 241, 20(1972) 또는 ou, L., and Murphy, C. J. Fine-Tuning the Shape of Gold wNanorods. *Chem. Mater*. 17 (14), pp 36683672 (2005)에 기재된 것을 참조할 수 있다.

[0036] SERS 활성 나노입자는 모양 및 종횡비에 따라 물리적, 광학적 및 전자적 특성에 영향을 받으며, 본원에서는 본원의 효과를 나타내는 한 다양한 모양 및 가로세로비의 나노입자가 사용될 수 있다. 본원에 사용될 수 있는 나노 입자의 모양은 스페로이드, 로드, 디스크, 피라미드, 큐브, 실린더와 같은 다양한 기학적 및 비기학적 모양을 포함하나, 이로 제한하는 것은 아니다. 본원의 한 구현예에서는 로드 모양의 나노입자가 사용된다. 대안적으로 로드 입자만이 아니라, 다른 모양이라도, 계면상에서 특정 배향을 할 수 있고, 거기에 맞는 파장의 레이저를 사용한다면 다양한 모양 및 종횡비의 입자가 사용될 수 있음은 물론이다.

[0037] 나아가, 본원에 사용될 수 있는 나노입자는 등방성 또는 비등방성 입자를 포함하는 것이다.

[0038] 나노 로드는 예를 들면 실시예에 기재된 방법과 같은 다양한 방법으로 생산될 수 있으며, 특정 종횡비(aspect ratio)를 가지며, 길이는 예를 들면 나노입자가 생산되는 애퍼처(aperture)와 평행한 부분을 말하는 것이다. 본원에는 다양한 종횡비의 나노로드가 사용될 수 있으며, 검출하고자 하는 구체적 물질의 종류에 따라 달라질 수 있다. 본원에 사용될 수 있는 종횡비는 1:0.1 내지 1:10이다. 한 구현예에서는 1:3.5 이다.

[0039] 또한 나노로드는 길이로 표현될 수 있으며, 한 구현예에서 나노입자의 길이는 약 10nm 내지 500nm이다. 길이가 정해지면 종횡비에 따라 너비의 크기도 결정된다. 한 구현예에서, 나노 로드 입자의 종횡비는 3.7이고, 이 경우 길이는 59 nm, 너비가 16 nm이다.

[0040] 상기 언급한 바와 같이 본원은 친수성-친유성 계면에서의 계면에너지 조절을 통해, SERS 활성 나노입자가 특정 배향을 취하게 함으로서, SERS 강도를 증폭하여 미량으로 존재하는 분석물을 검출하는 것이다. 이때 본원의 친수성 물질은 SERS 활성 나노입자가 분산될 수 있는 다양한 용매를 포함하는 것으로, 예를 들면, 물, 또는 에탄올 및 메탄올을 포함하는 유기용매를 포함하는 것이나 이로 제한하는 것은 아니다. 또한 분석물이 친유성 물질에 포함되어 있는 경우는, 친수성 물질의 추가로, SERS 활성 나노입자가 계면에 배향을 취하게 함으로써 분석물을 검출하는 것도 또한 가능하다. SERS 활성입자의 분산특성은 입자표면의 안정화 물질에 따라 달라지며, 현재까지 보고된 바에 의하면 SERS 활성입자는 종류에 따라 친수성 용매 또는 친유성 용매에 분산 가능하다.

[0041] 상기 친유성 물질은 친수성 물질과 섞이지 않고, 계면을 형성할 수 있는 다양한 물질이 사용될 수 있다. 수불용성의 물질, 예를 들면 지방산 (fatty acid), 예컨대 불포화 및 포화지방산, 예컨대 불포화지방산으로 미리스톨레산, 필미톨레산, 사피엔산, 올레산, 엘라이드산, 박센산, 리놀레산, 리놀렌산, 아라키돈산, 데이코사펜타엔산, 에루스산, 도코사헥사에논산, 또는 포화지방산으로 카프릴산, 카프리산, 라우르산, 미리스트산, 팔미트산, 스테아르산, 아라키드산, 베헨산, 리그노세르산 및 세로트산을 포함하나, 이로 제한하는 것은 아니다.

[0042] 친유성 물질을 분석대상 물질을 포함하는 친수성 용액, 예를 들면 수용액에 SERS 활성나노입자, 예를 들면 골드나노로드입자를 추가하고, 친유성 물질, 예를 들면 올레산을 첨가할 경우, 올레산-물 계면이 형성되고, GNR은 상기 계면에 가장 낮은 에너지를 취하는 수직으로 배향된다.

[0043] 본원의 이러한 현상은 액상에서 SERS를 이용한 분석물의 존재여부 또는 농도 결정과 같은 검출에 사용될 수 있다. 본원의 방법이 사용될 수 있는 분석물은, 특히 미량으로 존재하는, 다양한 저분자 및 고분자 화합물을 포함하며, 예를 들면 생물학적 고분자, 특히 용액 중에서 3차원 구조를 취하며, 브라운 운동으로 인해 검출 감도가 낮은 물질을 포함한다. 이러한 예로는, 예컨대 단당류 및 다당류를 포함하는 탄수화물, 올리고뉴클레오타이드 및 폴리뉴클레오타이드를 포함하는 단일 또는 이중 가닥의 DNA (Deoxyirbonucleic acids) 또는 RNA (Ribonucleic acids), 및 아미노산으로 이루어진 올리고펩타이드, 폴리펩타이드 및 단백질을 포함하는 것이나 이로 제한하는 것은 아니며, 상기 물질에 다른 화합물이 결합된 변형된 형태도 포함한다.

[0044] 본원의 한 구현예에서, 분석물은 양친매성 물질이다. 양친매성 물질의 경우, 금속 나노입자가 배열된 친유성-친수성 액상 계면에서 친유성 용매와 친수성 용매에서 확산계수 차에 의해, 계면에 분석물이 농축되는 효과를 가져와, 더욱 강한 SERS 신호를 얻을 수 있다. 양친매성 물질은 소수성기와 친수성 기를 모두 가진 분자로서, 예를 들면 폴리에틸렌글리콜, 폴리비닐피롤리돈, 플루론 F68 등이 있다. 이러한 물질은 단백질 변형(modification) 에 널리 사용되어, 효능을 조절하거나, 약물전달시스템에 응용되며, 이러한 물질의 검출에도 본

발명이 용이하게 사용될 수 있다.

[0045] 본원의 한 구현예에서는 라만 신호 발생을 위해 레이저가 여기용 빛으로 사용될 수 있다. 당업자라면 본원의 효과를 나타낼 수 있는 적절한 레이저의 강도 및 파장을 선택할 수 있을 것이다. SERS 효과를 얻기 위해 나노입자를 여기 레이저를 이용하여 여기시키는데, 이 경우 나노입자와 공명을 일으키는 파장은, 나노입자의 모양, 크기 및/또는 재질에 따라 다르다. 따라서 어떤 특정한 파장에 국한된 레이저가 사용되는 것이 아니라, 사용되는 나노입자와 공명할 수 있는 파장의 레이저가 채용되야 하며, 당업자라면 적절한 파장을 선택할 수 있을 것이다. 예를 들면 여기 파장은 사용되는 GNR의 종횡비에 따라 달라질 수 있으며, 종횡비가 1:3.7인 경우, 785nm의 레이져가 사용될 수 있다.

[0046] 본원의 효과를 나타내기 위해 조사되는 레이저는 편광각과 조사방향이 중요하며, 액상-액상 계면과 평행으로 조사되는 경우 레이저의 편광각은 90도인 경우, SERS 신호가 최대가 되며, 이는 금속나노로드가 액상-액상 계면에서 수직으로 배열하기 때문이다. 본원의 한 구현예에서는 레이저는 액상-액상 계면에 대하여 평행으로 조사되고, 편광각은 90도이다.

[0047] 한 구현예에서, 본원의 방법은 또한 분석물을 포함하는 시료에서 별도의 처리 없이 직접 수행될 수 있다. 예를 들면 시료를 시험 용기에 수집한 후 여기에 SERS 활성 나노 입자와 친수성 물질을 추가 한 후, 특정 파장의 레이저를 조사하여 발생되는 라만 신호를 검출기로 판독할 수 있다.

[0048] 본원에서 불수용성 용매인 올레산을 SERS 활성 나노입자 분산액에 첨가하면 용액의 계면 에너지의 변화가 초래된다. 그 결과, 친수성-친유성 계면에서 GNR은 가장 낮은 에너지를 갖는 수직 방향, 즉. GNR의 장축이 계면에 대하여 수직이 되게 위치하고 (도 1a 참조), 이에 따라 SERS 신호 강도가 증폭되는 현상이 일어난다.

[0049] 본원의 한 구현예에서는 친수성 및 친유성 물질로 물 및 올레산을 사용하여, 올레산-물 계면에서 SERS 활성 나노 입자로 사용한, 골드나도로드인 GNR의 수직 배열을 이론적 계산하고 및 실험적으로 검증하여 GNR의 특이적 배향이 액체 상태에서 SERS를 사용하여 대상분자를 검출하는데 쓰일 수 있다는 것을 증명하였다.

[0050] 본원의 이러한 검출 방법은 (i) GNR과 같은 SERS 활성 나노 입자 위치와 방향을 결정할 수 있어, 이로 인한 재현성 향상과 (ii) SERS 신호 검출 전에 나노입자의 후처리 등과 같은 추가의 단계 없이 직접 액상상태에서 SERS 신호를 수집할 수 있는 편리성을 제공한다.

[0051] 본원은 또한 표면증강라만분광을 이용한 분석물 검출용 키트를 제공하며, 상기 키트는 본원에서 상술한 바와 같은 친수성 또는 친유성의 SERS 활성 나노입자 분산액 및 선택적으로 친수성 또는 친유성 물질을 포함한다. 상기 친유성 또는 친수성 물질은 친수성-친유성 액상 계면이 형성될 수 있도록 상기 분산액에 첨가되는데, 즉, 상기 키트에서 SERS 활성나노입자의 분산액이 친수성일 경우는 친유성 물질을 포함하고, SERS 활성나노입자의 분산액이 친유성일 경우는 친수성 물질을 포함한다. 본원의 키트는 본원의 방법이 구현될 수 있는 다양한 장치에서 분석물의 검출을 위해 사용될 수 있다.

[0052] 요약하면, 본 발명은 액체 상태에서 SERS를 측정하는 새로운 방법에 관한 것이다. 계면 에너지의 조절을 통하여, 액체 상태에서 GNR의 배열을 조절하였다. 올레산 첨가시, GNR은 계면에서 가장 낮은 에너지를 갖는 수직 배열을 취한다.

[0053] 이론적 계산 및 실험을 통하여 계면에서의 GNR의 수직 배열이 입증되었다. 이러한 특성을 SERS를 이용한 분자 검출에 적용한 결과, GNR에 대한 별도의 처리 없이도, 10nM R6G 검출이 가능하였다. 본 발명은 분자 검출에 새로운 장을 여는 것으로서 기초 및 응용 과학 분야에 널리 사용될 수 있을 것이다.

[0054] **실시예**

[0055] **실험에 사용된 물질**

[0056] 하이드로젠 테트라클로로오레이트(III) 하이드레이트 ($HAuCl_4 \cdot 3H_2O$,99.999%;Sigma-Aldrich) 및 올레산 (99 % Sigma Aldrich Inc.) 은 별도의 정제 없이 사용하였다. 수용액 중의 로다민 6G (R6G, 99 % Sigma Aldrich Inc.)을 SERS 측정의 검출 분자로 사용하였다. 모든 실험에 사용된 유리기구는 피란하 용액 (piranha)(H_2SO_4:H_2O_2=7:3v/v)에서 30분간 처리 후 탈이온수 (Deionized Water, DI)로 수회 세척한 후 사용하였다.

[0057] **골드 나노로드의 제조**

[0058] 종횡비가 3.7인 GNR을 Gou, L., and Murphy, C. J. Fine-Tuning the Shape of Gold wNanorods. *Chem. Mater*. 17 (14), pp 3668-3672 (2005) 에 기재된 대로 제조되었다. GNR의 광학적 특성은 UV-스펙트로포토미터로 측정하였으며, 그 결과 GNR이 785nm에서 장축 플라즈몬 공명을 나타낸다는 것을 확인 하였다 (도 1B 참조). GNR의 형태 및 광학적 특성은 주사전자현미경(TEM, Ted Pella, Inc)과 UV-가시광선 스펙트로포토미터를 사용하여 수행되었다. TEM 시료는 GNR 시료 10 μl를 카본 코팅된 300 메쉬 TEM 그리드에 적하하여 제조하였다. TEM 분석은 서울대학교 농생명과학공동기기원 (NICEM)에 의뢰하여 수행하였다.

[0059] **SERS 분석**

[0060] SERS 분석은 Raman spectrometer QE65000 (Ocean Optics Inc.)와 785 nm laser module I0785MM0350MS (Innovative Photonic Solution Inc.)을 사용자의 지시대로 이용하여 분석하였다. 본 장비는 200 to 2250 cm^{-1} 범위에서 데이터를 수집한다. SERS 분석은 올레산 추가 직후에 수행하였으며, 레이저는 올레산-물 계면에 평행하게 조사되었다. 레이저 파워는 250mW이고, 데이터는 각 분석마다 3초 동안 수집되었다.

[0061] **올레산-물 계면에서의 GNR의 배열 결정**

[0062] 1 ml의 제조한 GNR 용액과 250 μl 의 10 μM R6G를 UV 큐벳에 넣은 후, 이를 1.25 ml의 탈이온수로 희석하였다. 이어 상기 희석 혼합물에 500 μl 의 올레산을 첨가하여 올레산-물 계면을 형성하도록 하였다.

[0063] **- 이론적 계산을 통한 배열 결정**

[0064] SERS 신호 강도의 향상은 조사된 빛의 파장과 나노입자가 LSPR 밴드와 공명할 때 최대가 된다고 알려져 있다. GNR의 비등방적인 구조로 인해 785 nm 레이저를 조사했을 때 SERS 향상은 조사된 빛과 GNR의 장축과의 방향에 따라 변하게 된다 (도 2B참조). 올레산-물 계면에서의 GNR의 배열을 계산하기 위하여, 도 2A의 (a)에도 기재된 바와 같이 계수를 다음과 같이 정의 하였다; 각도(Θ): 입자의 장축과 계면과의 각도; d: 입자의 하단부터 상단까지의 거리; d_w : 입자의 하단부터 계면까지의 거리. 시스템의 계면 자유 에너지 (E)는 다음의 식으로 계산하였다:

[0065] $$E = \sum_{i=w,o} S_{top,i} * X_{S_{top,i}} + S_{bottom,i} * X_{S_{bottom,i}} + S_{side,i} * X_{S_{side,i}} - A * X_{w/o} \quad (1)$$

[0066] 상기 식에서 w 및 o는 각각 물 및 올레산을 나타내고, $S_{top,i}$, $S_{bottom,i}$, 및 $S_{side,i}$는 각각 매질을 면하고 있는 GNR의 상면, 하면, 및 측면의 면적을 나타내고, $X_{Stop,i}$, $X_{Sbottom,i}$ 및 $X_{Sside,i}$는 각 매질 및 입자의 상응하는 표면간의 상호작용 계수를 나타낸다. A는 계면에 입자가 놓임으로 인한 올레산-물 계면의 손실된 면적을 나타내고, Xw/o는 올레산 및 물 사이의 상호작용 계수이다. 상호작용 계수는 각 표면 및 매질 사이의 계면 장력의 비로 나타낸다. GNR은 CTAB에 의해 안정화되는 것으로 알려져 있다 (Johnson C. J., Dujardin E., Davis S. A., Murphy C. J. and Mann S. Growth and Form of Gold Nanorods Prepared by Seed-mediated, Surfactant-directed Synthesis. *J. Mater. Chem.* 12, pp 1765-1770 (2002)). 그러나 CTAB 머리기의 크기로 인해, CTAT는 상부, 하부보다는 측면 부위에 선호적으로 결합한다. GNR의 상부 및 하부 부착된 다수의 CTAB 분자는 측면 부위에 부착된 것보다 다소 작기 때문에 (Caswell K. K., Wilson J. N., Bunz U. H. F., and Murphy C. J., Preferential End-to-End Assembly of Gold Nanorods by Biotin-Streptavidin Connectors. *J. Am. Chem. Soc.* 125, pp 13914-13915, (2003)), $X_{w/o}$, $X_{bottom/w'}$ 및 $X_{top/w}$ 및 $X_{side/water}$ 값은 공지된 값에 기초하여 계산하였다. (Israelachvili J. N. Intermolecular and Surface Forces 2nd Edition, *Academic Press* (1991)). CTAB 및 올레산 간의 계면 장력은 하기 식으로 계산한 후, 상호 작용계수로 전환하였다(5).

[0067] $$\gamma_{w/o} \approx \gamma_{w/CTAB} + \gamma_{o/CTAB} - 2\sqrt{\gamma_{w/CTAB}\gamma_{o/CTAB}} \quad (2)$$

[0068] GNR의 양태는 계산된 결과로부터 계면에너지의 감소로 예측 가능하다. 고정된 위치(d_w/d=0%)에서, GNR의 수직 배향을 할 경우, 가장 낮은 계면에너지를 취한다. 각도를 90도로 고정하였을 경우, 에너지는 GNR이 올레산에 점진적으로 침잠함에 따라 감소하였다 (도 2a의 (c)). 도 2a의 (d)는 Θ및 d_w/d에 대한 계면 에너지의 계산값이다. 이는 GNR의 계면에서 수직 배향이 에너지 측면에서 가장 선호되는 배열임을 나타낸다.

[0069] **- SERS 측정을 통한 배열 결정**

[0070] 올레산-물 계면에서의 GNR의 배열을 SERS로 조사하였다. 여기 파장이 금속 나노입자의 플라즈몬 공명과 일치될 때, SERS 신호가 최대가 된다고 알려져 있다(6, 7). UV-가시광선 스텍트로스코피를 사용하여, GNR이 785nm 부근에서 장축의 플라즈몬 공명 모드를 가지는 것으로 확인되었다 (도 1b). GNR 구조 비등방성 구조로 인해, 785 nm 레이져를 조사했을 시 SERS 향상 정도는 조사된 빛과 GNR의 장축의 방향에 의존적이게 된다 (도 2b 참조). GNR 장축이 785nm 레이저의 조사 방향에 직각인 경우, GNR은 활성화되어 라만 신호가 강하게 증폭된다. 반면 GNR 장축과 조사되는 785nm 레이져가 수평인 경우, GNR은 활성화되지 않아 라만 신호의 증폭도 일어나지 않는다. (도 2b 참조).

[0071] 이러한 사실을 근거로, 대상물질로써 로다민 6G (R6G) 1μM를 사용하여, 올레산-물 계면에서의 GNR의 방향을 여러 상이한 조건 (위치, 레이저 조사 방향, 레이저 편광각도) 에서의 R6G SERS 강도를 관찰하여 조사하였다.(도 3a 및 4).

[0072] 먼저 세 가지의 레이저 조사위치에 대한 음성적 대조실험(공기-물 올레 산 층, 물 층)을 통하여 올레산-물 계면에서 GNR이 배열된다는 것을 확인하였다. 모든 대조실험에서 레이저 조사방향은 계면에 수평하게 조사되었다 (도 3a).

[0073] 785 nm laser를 조사했을 시 각 실험 조건 (oil 첨가 유무, 레이저 조사위치, 방향 편광각도)에 따른 R6G의 SERS 신호의 강도를 통하여 액-액 계면에서 GNR의 배열방향을 조사하였다. R6G의 피크는 613.7, 770.1, 1182.6, 1365.7 및 1512.7 cm^{-1}에서 라만 피크를 가진다는 것을 확인하였다 (도 3b, 별표). 레이저가 공기-물 계면에 조사된 경우, 피크는 관찰되지 않았다 (도 3a의 (a)). 반면 올레산을 첨가 하고 난 후 올레산 층으로 레이저를 조사한 경우 올레산의 대표적 라만 시프트 값 1085.9, 1306.4, 1443.6, 1657.5 cm^{-1}이 측정되었다 (도 3b). 하지만 레이져가 수용액 층에 조사된 경우 올레산을 첨가해도, 주목할 만한 SERS 신호가 나타나지 않았다 (도 3c). 하지만, 레이저 조사 위치를 올레산과 수용액 계면으로 이동했을 시, 올레산 SERS 신호와 함께 선명한 R6G의 SERS 신호를 볼 수 있었다 (도 3d). 이러한 결과는 수용액 상태에서 GNR은 무작위 배열을 갖기 때문에 LSPR(Localized Surface Plasmon Resonance)이 일어나는 입자 수가 적지만 올레산-물 계면에서는 GNR이 집단적으로 수직으로 배열이 되어음을 나타내는 것으로 그 결과 R6G의 SERS 강도로 강해졌다.

[0074] 다음으로 레이저 조사 방향 및 편광각 조건을 변화시키면서 GNR의 배열방향을 조사하였다. 도 4a의 (a)는 레이저 조사 방향을 계면에 수직하게 했을 때 계면에서의 R6G SERS 신호의 강도를 나타낸 것이다. 이 조건에서는 R6G는 뚜렷한 SERS 신호가 없음을 관찰하였다. 도 3d와 비교하면, 이러한 결과는 계면에서 GNR이 수직배열을 하고 있기 때문이다. GNR의 수직 배열로 인해, 레이저 방향이 계면에 수직인 경우, GNR 장축이 레이저 방향과 수평이 되기 때문에, SERS 강도가 향상되지 않았다. 하지만, 레이저를 계면과 수평으로 조사했을 경우, GNR의 장축이 조사방향과 수직이 되어 SERS 신호가 크게 증폭된다. 부가하여, SERS 강도의 강한 편광각 의존성도 레이저를 평행으로 조사한 경우 관찰되었다. R6G 라만 피크 중에서 613.7 및 1512.7 cm^{-1} 피크가 올레산과 간섭이 없어서, 상기 피크에서 편광각에 따른 SERS 강도를 조사하였다. 도 4a의 (b)에서 화살표는 레이저의 편광 방향을 나타낸다. 수직으로 편광 했을 때 SERS 신호가 평균 약 2 배정도 강해졌다. 수직으로 배열된 GNR의 장축은 레이저 편광 방향에 대응하고, 그 결과 GNR의 LSPR이 초래되기 때문에, SERS가 신호가 강하게 증폭된다.

[0075] 도 3 내지 도 4의 모든 결과는 도 2a에 나타난 바와 같이, GNR이 계면상에서 수직 배열을 하고 있음을 증명하는 것이다. 모든 실험에서, GRN 및 R6G의 확산에 의한 영향을 배제하기 위해 올레산 첨가 후 20 초 이내에 SERS 데이터를 얻었다.

[0076] **올레산-물 계면에서의 GNR을 이용한 분자 검출 및 민감도**

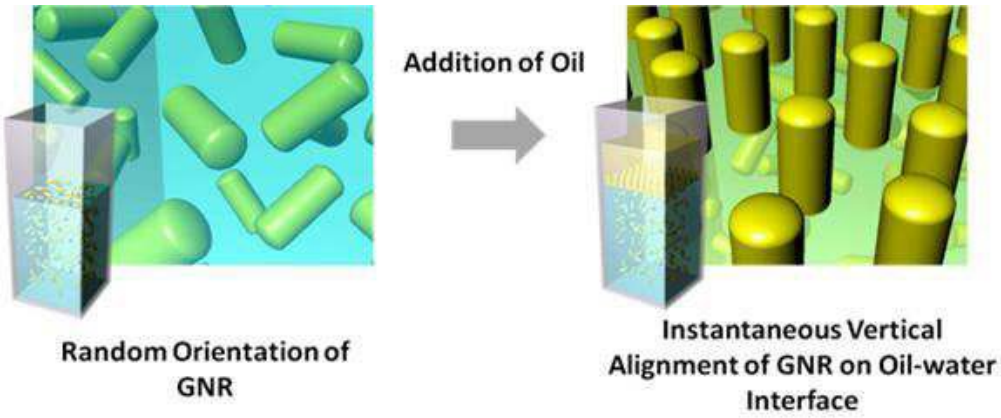
[0077] GNR의 계면에서의 수직 배열을 액상 SERS를 이용한 분자 검출에 적용하였다. 민감도 측면에서의 검출 성능을 시험하기 위하여, R6G 용액을 원액으로 제조한 후, 1 nM 내지 10 μM 범위의 상이한 농도에서 검출 능을 시험하였다. 도 5a는 R6G의 농도를 10 배씩 증가시키면서 계면에서 얻은 온전한 SERS 결과이다. 613.7 및 1512.7 cm^{-1}에서 R6G 농도 증가에 따라 SERS 신호의 증가가 관찰되었다. 올레산-물 계면에서의 온전한 SERS 스펙트럼은 도 4C에 있다. 각 농도에서 올레산의 SERS 강도는 일정하였다. R6G의 농도가 증가에 따른 R6G 라만 시프트 값의 증가는 10nM부터 관찰되었다. 올레산의 SERS 신호는 일정한 것을 관찰할 수 있었으며, R6G 농도 변화에 따른 SERS 강도의 변화는 10nM부터 관찰되었다. GNR을 사용하지 않는 경우, R6G의 라만 신호가 1mM부터 관찬될 수 있음을 고려하면, 본 발명에 따른 GNR 배열에 따른 민감도 향상은 10^5으로 추정될 수 있다. 나아가, GNR의 수직 배향으로 인한 효과는 무작위로 배향된 GNR 용액의 경우 10μM 가 검출 한계임을 고려하면, 대략 10^3으로 계산할 수 있다.

[0078] GNR의 선농축 효과는 R6G의 농도를 1μM로 고정환 후 시험하였다 (도 5b). 사전 농축 인자는 기제조된 GNR 용액과 비교한 희석 또는 농도 비율을 의미한다. GNR의 농도가 증가함에 따라 SERS 강도 증가도 관찰되었다. 농축 인자가 10인 경우, 기제조된 GNR 용액을 사용한 경우와 비교하여 1512.7에서 2배 이상 강도가 증가하였다.

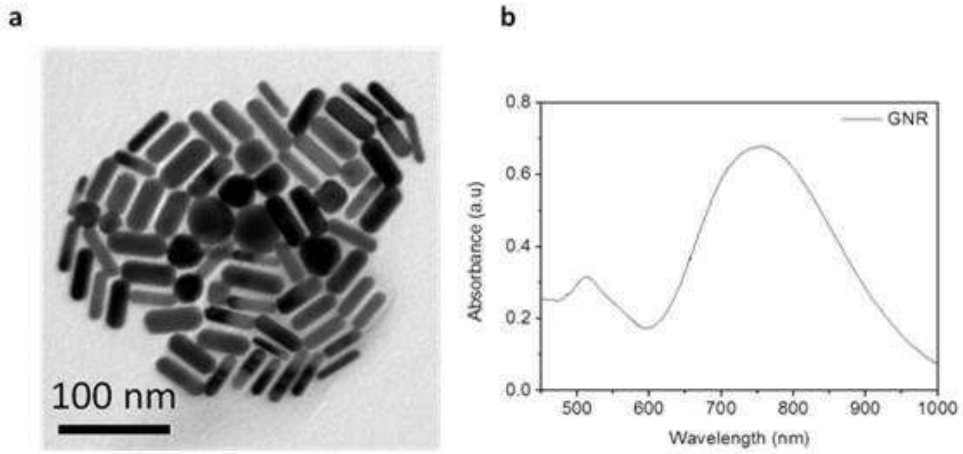
[0079] 또한 농축인자 10에서 GNR 용액을 이용한 검출의 한계를 시험하였다. 도 5a와 비교하여, SERS 강도 증가는 R6G가 1μM를 초과하는 경우에 관찰되었다 (결과는 나타내지 않음). 그러나 민감도 측면에서는 현저한 변화는 없었다.

도면

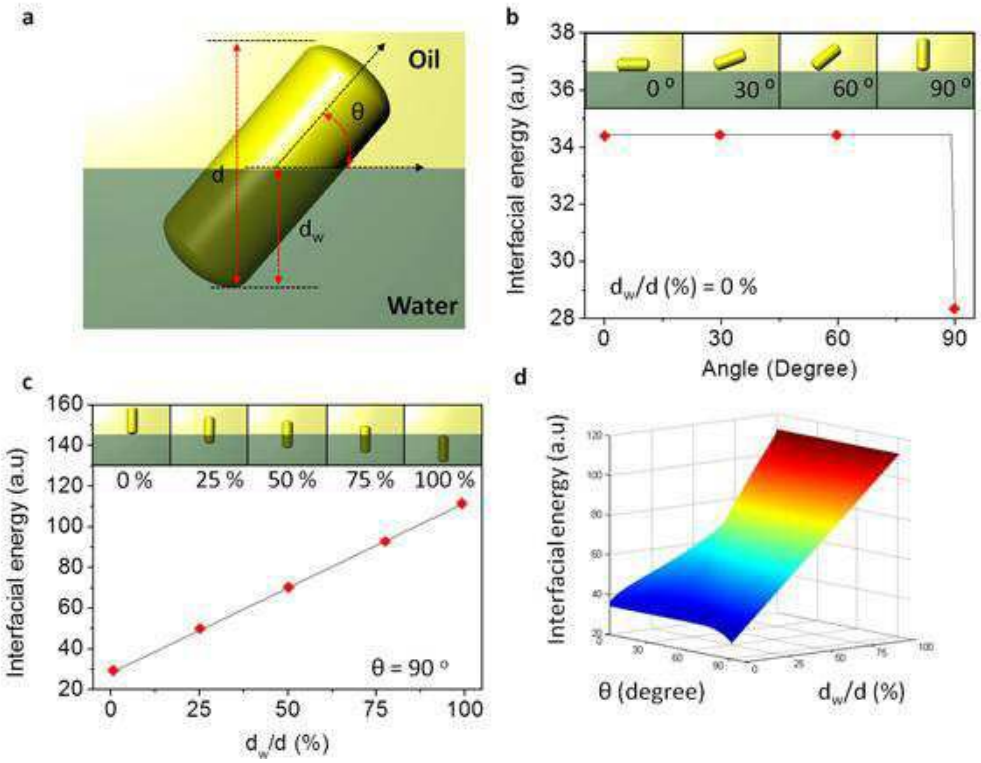
도면1a



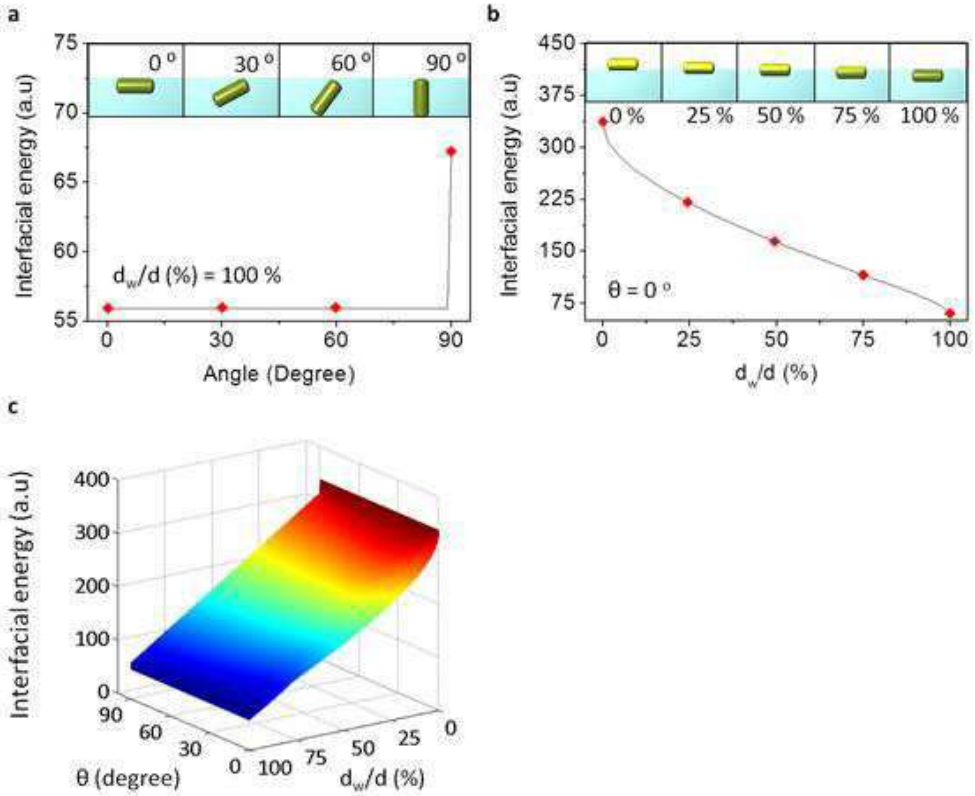
도면1b


a
b
100 nm
GNR
Absorbance (a.u)
Wavelength (nm)

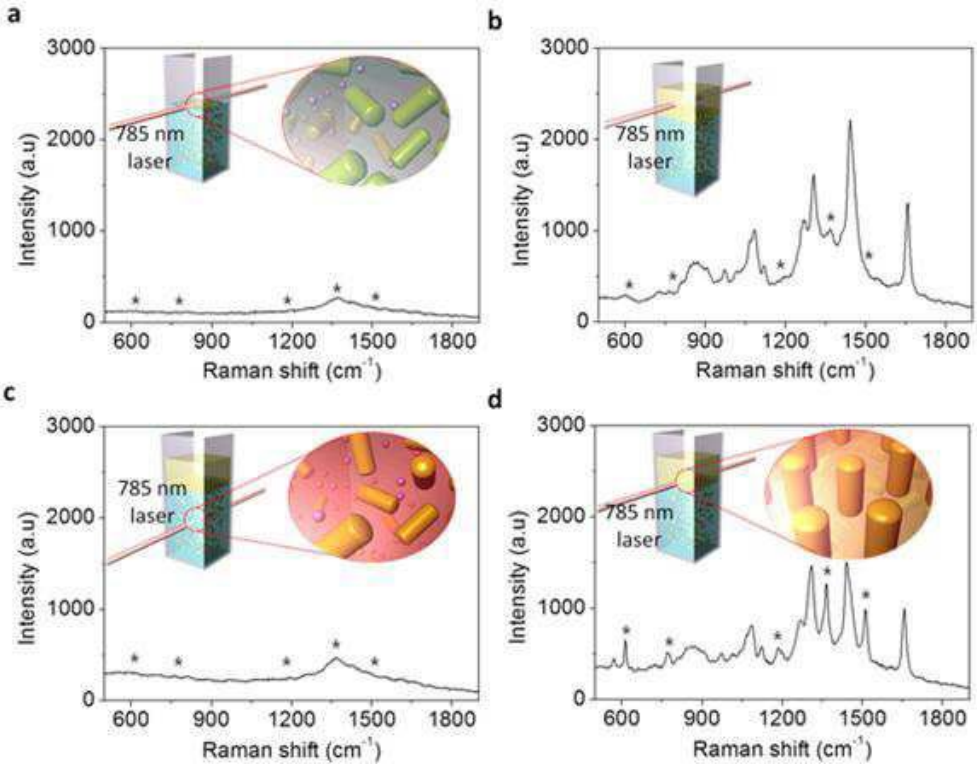
도면2a


a
Oil
Water
θ
d
d_w
b
0 °
30 °
60 °
90 °
Interfacial energy (a.u)
d_w/d (%) = 0 %
Angle (Degree)
c
0 %
25 %
50 %
75 %
100 %
θ = 90 °
Interfacial energy (a.u)
d_w/d (%)
d
Interfacial energy (a.u)
θ (degree)
d_w/d (%)

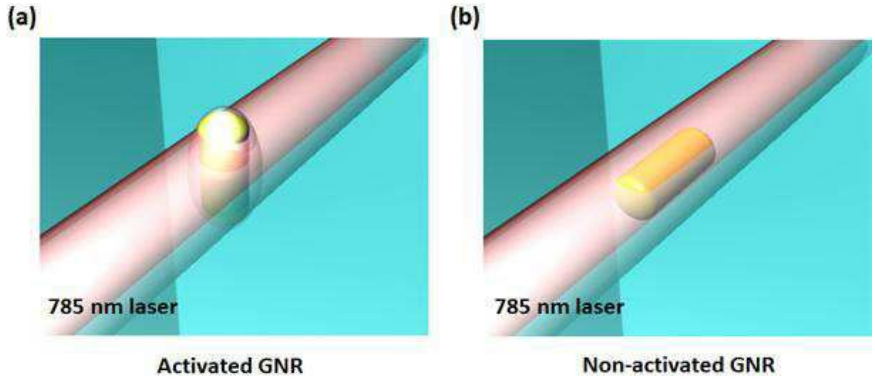
도면2b


a
b
c
Interfacial energy (a.u)
0 °
30 °
60 °
90 °
d$_w$/d (%) = 100 %
Angle (Degree)
0 %
25 %
50 %
75 %
100 %
θ = 0 °
d$_w$/d (%)
θ (degree)

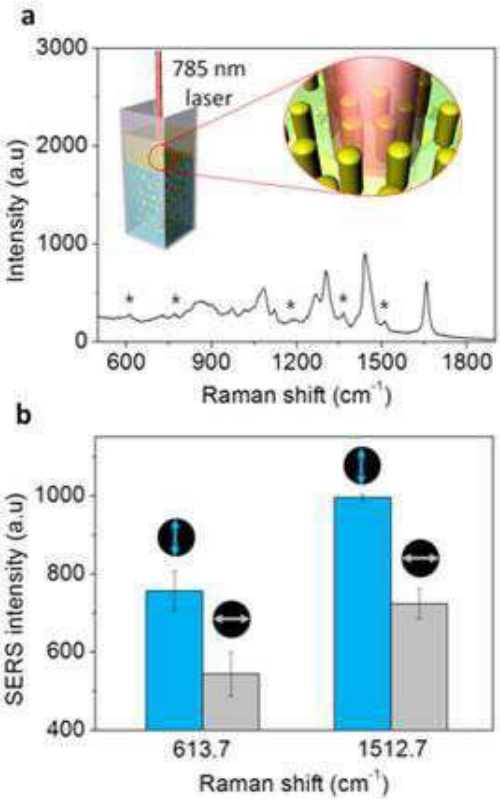
도면3a


a
b
c
d
Intensity (a.u)
785 nm
laser
Raman shift (cm^{-1})

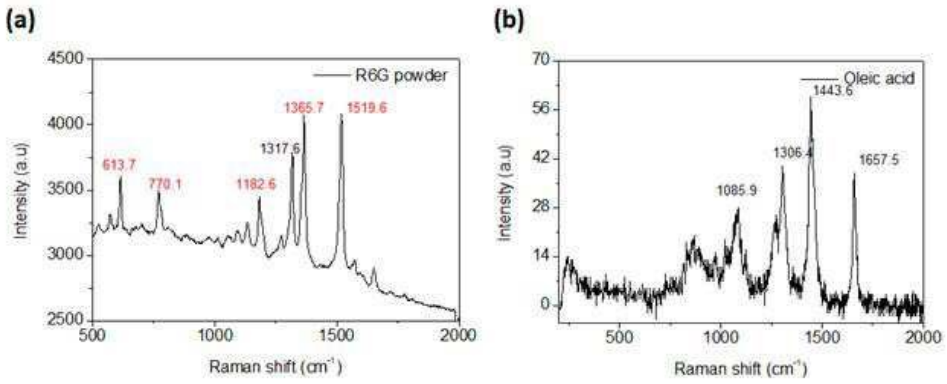
도면3b



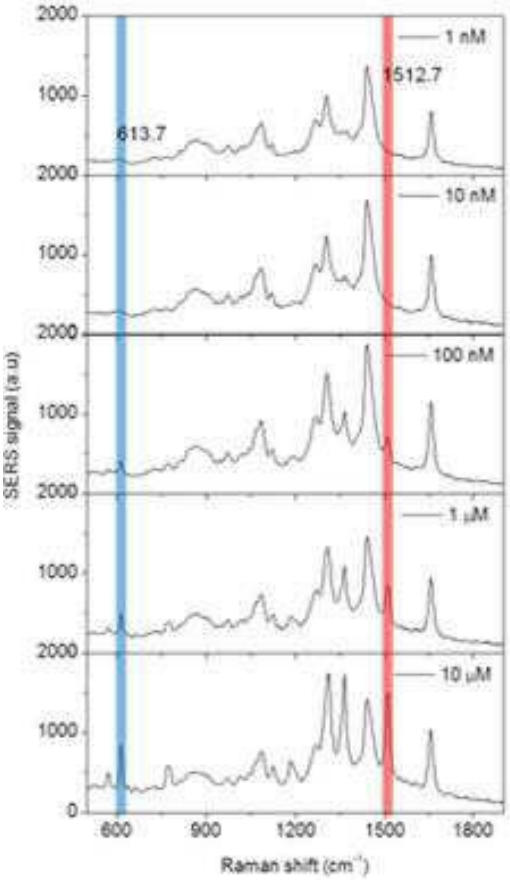
도면4a



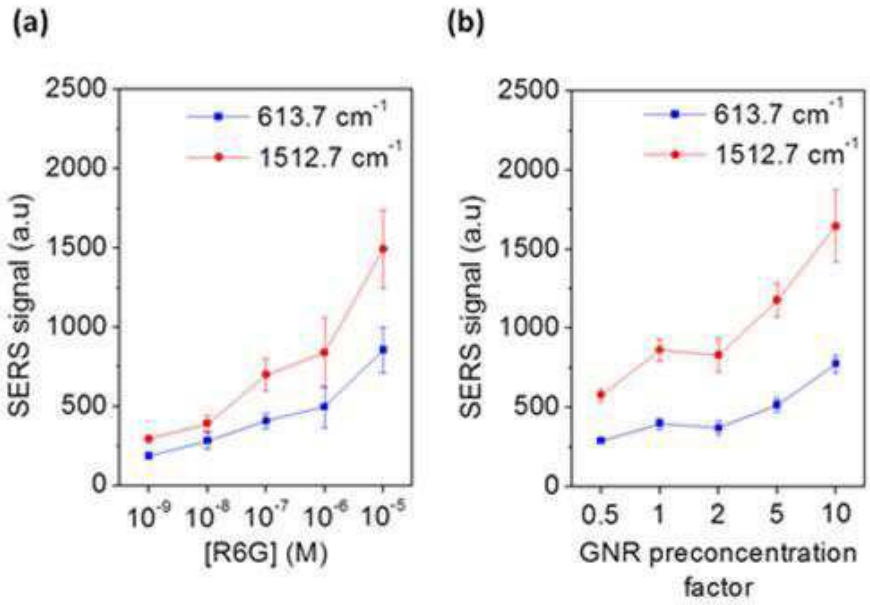
도면4b



도면4c


1 nM
10 nM
100 nM
1 μM
10 μM
613.7
1512.7
SERS signal (a.u)
Raman shift (cm⁻¹)

도면5


(a)
(b)
613.7 cm⁻¹
1512.7 cm⁻¹
SERS signal (a.u)
[R6G] (M)
GNR preconcentration factor