(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2015년03월02일
(11) 등록번호 10-1496677
(24) 등록일자 2015년02월23일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 31/22 (2006.01) *G01N 21/78* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2013-0099596
(22) 출원일자 2013년08월22일
심사청구일자 2013년08월22일
(56) 선행기술조사문헌
JP2012528933 A
KR1020130001886 A
KR1020100092625 A
JP2007278836 A

(73) 특허권자
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
한창수
서울 노원구 중계로 184, 107동 1202호 (중계동, 라이프청구신동아아파트)
김려화
서울시 성북구 안암동5가 고려대학교 차세대기계설계기술연구소
(74) 대리인
특허법인충현

전체 청구항 수 : 총 15 항 심사관 : 김도헌

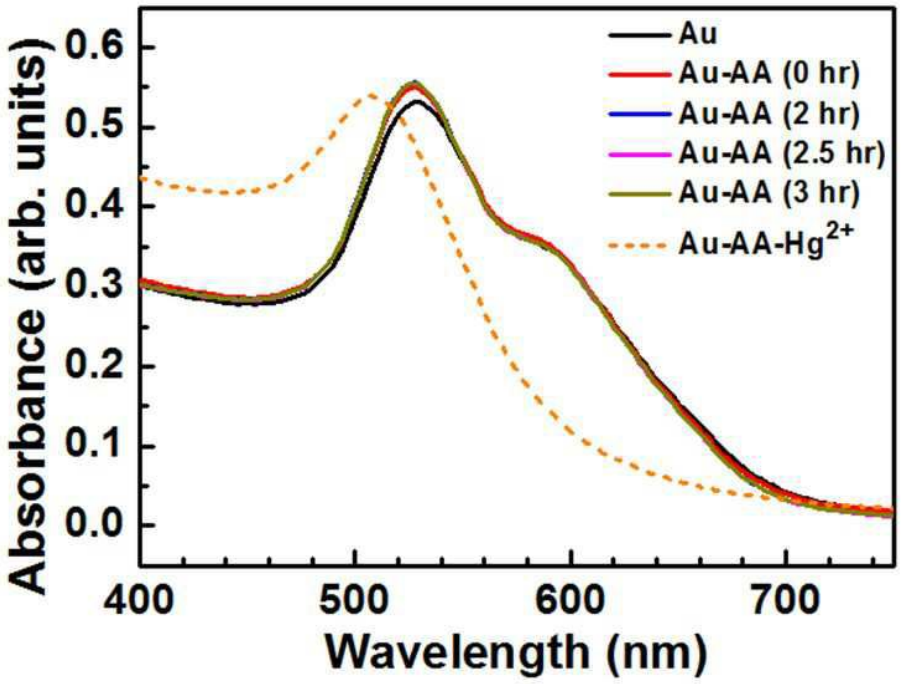
(54) 발명의 명칭 **금 나노입자를 이용한 수은이온의 색변환 측정**

(57) 요 약

본 발명은 금나노 입자 혼합물을 이용한 용액에 있는 중금속 이온의 색변환 측정방법에 관한 것이다. 본 발명의 여러 구현예에 따르면, 수은 또는 수은 이온의 선택적 색상-기반 검출센서 및 이를 이용한 검출 방법은 정밀한 기기 및 시편 제작을 필요로 하지 않고, 종래 표면 개질 방식이 아닌 표지기가 없는 순수한 금 나노입자만을 사

(뒷면에 계속)

대 표 도 - 도1



용할 수 있는 장점이 있고, 다양한 금속 이온이 존재하는 경우에도 수은 이온에 대한 선택성이 높은 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)가 코팅된 금 나노입자(CTAB-NG와 아스코르브산 혼합 용액을 이용하여 이를 수은 또는 수은 이온과 반응시켜 발생되는 형광 강도 또는 색 변화를 측정함으로써 육안 및 광학적 방법으로 수은 또는 수은 이온을 검출할 수 있으므로 간단하고, 빠르며, 비용절감 효과가 있고 안전하므로 수은 이온의 즉각적인 검출 즉, 휴대용 색측정기(colorimetric kit) 및 발광측정기(fluorimetric kit)로 유용하게 사용될 수 있는 효과를 달성할 수 있다.

특허청구의 범위

청구항 1

수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서로서;

(A) 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)가 코팅된 금 나노입자(CTAB-NG) 및 (B) 아스코르브산을 1 : 3×10^{6} - 32×10^{6}의 몰비로 포함하는 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서.

청구항 2

수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서로서;

(A) 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)가 코팅된 금 나노입자(CTAB-NG) 및 (B) 아스코르브산을 1 : 3×10^{6} - 32×10^{6}의 몰비로 포함하고,

상기 (A) CTAB-NG는 (a) CTAB가 코팅된 구형 금 나노입자 및 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자를 포함하는 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서.

청구항 3

제2항에 있어서,

상기 (a) CTAB가 코팅된 구형 금 나노입자 및 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자는 1:0-0:1의 중량비로 포함하는 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서.

청구항 4

제2항에 있어서,

상기 (a) CTAB가 코팅된 구형 금 나노입자는 크기가 5-100 nm이고, 상기 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자의 크기는 직경이 8-50 nm이며, 길이가 15-200 nm이고,

상기 (a) CTAB가 코팅된 구형 금 나노입자 및 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자는 흡광파장이 서로 다르며,

상기 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자는 CTAB가 코팅된 종방향 로드형 금 나노입자 및 CTAB가 코팅된 횡방향 로드형 금 나노입자를 1 : 1.5-5인 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서.

청구항 5

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서는 수은 또는 수은 이온과 상기 CTAB-NG가 아말감화, 상기 CTAB-NG의 표면 융착 및 상기 CTAB-NG의 응집 현상이 동시에 일어나 수은이 검출되는 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서.

청구항 6

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서는 Ag^{+}, Hg^{2+}, In^{3+}, Ca^{2+}, Pb^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{3+}, Cd^{2+}, Na^{+} 중에서 선택 되는 1종 이상의 금속 이온의 영향 없이 수은 또는 수은 이온을 선택적으로 검출하는 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서.

청구항 7

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 스펙트럼의 505 nm 및 590 nm 위치에서 두 개의 피크를 나타내고,

흡수율 $A_{505\ nm}/A_{590\ nm}$이 3.6인 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서.

청구항 8

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서는 최소 1 μM 농도의 수은 또는 수은이온에 대하여 육안으로 검출이 가능하고, 선형 검출능을 가지며, 0-10 μM 범위에서 검출한계 R^2는 0.986이고,

최소 30 nM 농도의 수은 또는 수은 이온에 대하여 광도측정법으로 검출이 가능하며, 선형 검출능을 가지고, 0-5 μM 범위에서 검출한계 R^2는 0.9989인 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서.

청구항 9

제1항 내지 제4항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서는 수은 또는 수은 이온의 농도가 증가할수록 색의 변화가 증가하는 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서.

청구항 10

수은 또는 수은 이온의 선택적 색상-기반 검출 방법으로서;

(1) (A) 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)가 코팅된 금 나노입자(CTAB-NG)를 포함하는 CTAB-NG 용액에 (B) 아스코르브산을 첨가하여 수용성 CTAB-NG-아스코르브산 용액을 제조하는 단계;

(2) 상기 (1) 단계에서 제조된 CTAB-NG-아스코르브산 용액에 수은 또는 수은 이온을 포함하는 수용액을 첨가하는 단계를 포함하고,

상기 (A) 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)가 코팅된 금 나노입자(CTAB-NG) 및 (B) 아스코르브산을 1 : 3×10^{6} - 32×10^{6}의 몰비로 포함하고,

상기 (A) CTAB-NG는 (a) CTAB가 코팅된 구형 금 나노입자 및 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자를 포함하는 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출 방법.

청구항 11

제10항에 있어서,

상기 (a) CTAB가 코팅된 구형 금 나노입자 및 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자는 1:0 - 0:1의 중량비로

포함하는 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출 방법.

청구항 12

제10항에 있어서,

상기 (a) CTAB가 코팅된 구형 금 나노입자는 크기가 5-100 nm이고, 상기 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자의 크기는 직경이 8-50 nm이며, 길이가 15-200 nm이고,

상기 (a) CTAB가 코팅된 구형 금 나노입자 및 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자는 흡광파장이 서로 다르며,

상기 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자는 CTAB가 코팅된 종방향 로드형 금 나노입자 및 CTAB가 코팅된 횡방향 로드형 금 나노입자를 1 : 1.5-5인 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출 방법.

청구항 13

제10항에 있어서,

상기 수은 또는 수은 이온의 선택적 검출은 상기 CTAB-NG를 상기 수은 또는 수은 이온과 반응시켜 보라색에서 붉은색으로의 색 변화를 측정함으로써 수행되는 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온의 선택적 색상-기반 검출 방법.

청구항 14

제10항에 있어서,

상기 수은 또는 수은 이온의 선택적 검출 시, Ag^{+}, Hg^{2+}, In^{3+}, Ca^{2+}, Pb^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{3+}, Cd^{2+}, Na^{+} 중에서 선택 되는 1종 이상의 금속 이온의 영향 없이 수은 또는 수은 이온을 선택적으로 검출하는 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출 방법.

청구항 15

제10항에 있어서,

상기 수은 또는 수은 이온의 선택적 검출 시, 표면 플라즈몬 공명(SPR) 스펙트럼의 505 nm 및 590 nm 위치에서 두 개의 피크를 나타내고,

흡수율 $A_{505\ nm}/A_{590\ nm}$이 3.6인 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출 방법.

명 세 서

기 술 분 야

[0001] 본 발명은 금나노 입자 혼합물을 이용한 용액에 있는 중금속 이온의 색변환 측정방법에 관한 것이다.

배 경 기 술

[0002] 일반적으로 현대의 산업 발전과 함께 산업 폐수 및 폐기물 등에 의한 환경오염으로 인류는 다양한 중금속의 중독 위험에 노출되어 있다. 특히, 그 중 수은은 중독되면 신경계에 이상이 생겨 언어장애, 운동 장애 등이 나타나고 심하면 사지가 마비될 수 있는 치명적인 물질이다. 이들 산업상 이용의 감소 노력에도 불구하고 수은 오염은 다양한 자연적 및 인류 발생학적 원인을 통해 여전히 지속되고 있다.

[0003] 이에, 수은 검출을 위한 다양한 기술이 개발되어 활용되고 있다. 종래 수은 농도 측정을 위한 방법으로는 화학적인 방법으로 분리하는 방법, 침전생성 등의 방법, 산화환원반응을 이용한 전기화학적인 방법, 그리고 형광을 이용하는 방법 등이 이용되어 왔고, 이 중에서 형광을 이용하는 방법이 가장 널리 활용되고 있는데, 형광을 이용하는 방법은 수은이 존재하지 않을 경우 형광을 보이지 않다가 수은 존재 시 형광을 나타내는 턴온(turn-on) 형광센서를 이용한다. 그러나 이러한 형광센서의 경우 수은 이외의 일부 단백질에 반응을 보여 나타나는 백그라운드(back-ground) 형광에 의하여 신호감지 시 오류를 나타낼 수 있으며, 이러한 오차의 원인을 줄이기 위해 여러 단계의 전처리 과정이 요구되는 문제점이 있다.

[0004] 또한, 올리고뉴클레어타이드를 이용하여 표면이 개질된 금 나노입자를 이용하여 일종의 바이오센서 개념으로 수은 이온을 측정한 경우가 다수 있으며, 수은 이온을 포함하는 다수의 중금속 이온들을 색 변환 방법으로 측정한 바 있다. 나아가, 여러 그룹들이 기능성 분자와 고분자로 표면이 개질 된 금 나노입자를 이용하여 매우 낮은 검출한계까지 수계에서 수은 이온을 색 변환 방법으로 측정하는 결과를 발표한 바 있으나, 상기 수은 이온 측정기술은 대게 색 변환을 위해 사용하는 나노입자들의 표면을 개질 하여 사용하게 되는데 이와 같은 표면 개질 방식의 색변환 측정은 균일성, 안정성, 선택성에 있어서 여전히 개선되어야 하는 문제점들이 존재하여 새로운 방식의 수은 측정 기술이 요구되고 있는 실정이다.

발명의 내용

해결하려는 과제

[0005] 본 발명이 해결하고자 하는 과제는 표면 개질 방식이 아닌 표지기가 없는 순수한 금 나노입자를 이용한 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서를 제공하는 것이다.

과제의 해결 수단

[0006] 본 발명의 대표적인 일 측면에 따르면, 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서로서;

[0007] (A) 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)가 코팅된 금 나노입자(CTAB-NG) 및 (B) 아스코르브산을 1 : 3×10^{6} - 32×10^{6}의 몰비로 포함하고,

[0008] 상기 (A) CTAB-NG는 (a) CTAB가 코팅된 구형 금 나노입자 및 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자를 1:0 - 0:1의 중량비로 포함하는 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서에 관한 것이다.

[0009] 본 발명의 다른 대표적인 일 측면에 따르면, 상기 검출센서를 이용한 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출 방법에 관한 것이다.

발명의 효과

[0010] 본 발명의 여러 구현예에 따르면, 수은 또는 수은 이온의 선택적 색상-기반 검출센서 및 이를 이용한 검출 방법은 정밀한 기기 및 시편 제작을 필요로 하지 않고, 종래 표면 개질 방식이 아닌 표지기가 없는 순수한 금 나노입자만을 사용할 수 있는 장점이 있고, 다양한 금속 이온이 존재하는 경우에도 수은 이온에 대한 선택성이 높은 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)가 코팅된 금 나노입자(CTAB-NG와 아스코르브산 혼합 용액을 이용하여 이를 수은 또는 수은 이온과 반응시켜 발생되는 형광 강도 또는 색 변화를 측정함으로써 육안 및 광학적 방법으로 수은 또는 수은 이온을 검출할 수 있으므로 간단하고, 빠르며, 비용절감 효과가 있고 안전하므로 수은 이온의 즉각적인 검출 즉, 휴대용 색측정기(colorimetric kit) 및 발광측정기(fluorimetric kit)로 유용하게 사용될 수 있는 효과를 달성할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0011] 도 1은 본 발명의 구현예에 따른 아스코르브산의 존재하의 금 나노입자의 SPR 스펙트럼을 나타내는 도면이다.

도 2는 본 발명의 구현예에 따른 (A) 금 나노입자와 결합된 수은의 아말감화를 도식적으로 나타내는 도면이고, (B) 아스코르브산 존재 하의 금 나노입자와 수은과 아스코르브산 존재 하의 금 나노입자의 TEM 이미지를 나타내는 도면이다.

도 3은 본 발명의 구현예에 따른 금 나노입자의 (A) 부재 및 (B) 존재에 따른 TEM 및 EDS 분석 결과를 나타내는 도면이다.

도 4는 본 발명의 구현예에 따른 아스코르브산 수용액 내의 수은 이온에 따른 금 나노입자 프로브의 선택도를 나타내는 도면이다. (A) 색 변화를 나타내고, (B) 농도에 따른 흡광도를 나타낸다.

도 5는 본 발명의 구현예에 따른 (A) 색 변화를 나타내는 사진이고, (B) 수은 이온의 다양한 농도가 첨가된 금 나노입자의 UV-vis 흡광도를 나타내는 도면이다.

도 6은 본 발명의 구현예에 따른 수은 이온의 농도에 따른 (A) SPR 피크 이동을 나타내고, (B) 흡광도 $A_{500\ nm}/A_{590\ nm}$를 나타내는 도면이다.

도 7은 본 발명의 구현예에 따른 색 변화를 나타내는 사진, (A) 다양한 농도의 수소 이온이 첨가된 후의 CTAB로 코팅된 금 나노입자의 UV-vis 흡광도를 나타내는 도면이고, (B) 아스크로브산이 포함된 나노골드 용액에서 수은 이온 농도에 대한 $A_{532\ nm}/A_{600\ nm}$ 흡수도를 나타내는 도면이다.

도 8은 본 발명의 구현예에 따른 다양한 모양을 포함하는 NG II를 나타내는 도면이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0012] 이하에서, 본 발명의 여러 측면 및 다양한 구현예에 대해 더욱 구체적으로 살펴보도록 한다.

[0013] 본 발명의 일 측면에 따르면, 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서로서;

[0014] (A) 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)가 코팅된 금 나노입자(CTAB-NG) 및 (B) 아스코르브산을 1 : 3×10^6 - 32×10^6의 몰비로 포함하는 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서가 개시된다.

[0015] 종래 아스코르브산이 금 나노입자의 합성단계에서 산화제로 사용하고 있는 반면에 본 발명에 따른 아스코르브산은 수은이온검출 과정 중 유일한 화학시약으로 사용되고 있다.

[0016] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서는 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드가 코팅된 금 나노입자(CTAB-NG) 및 아스코르브산을 1 : 3×10^6 - 32×10^6의 몰비로 포함되고, 상기 범위를 벗어나는 경우 1 : 3×10^6 미만의 몰비로 포함되는 경우에는 샘플 색 변화가 긴 시간을 소요 하고 관찰하기 어려운 문제점이 있고, 1 : 32×10^6 초과의 몰비로 포함되는 경우에는 용액 중의 금 나노입자들이 응집되는 문제점이 있다.

[0017] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서로서;

[0018] (A) 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)가 코팅된 금 나노입자(CTAB-NG) 및 (B) 아스코르브산을 1 : 3×10^6 - 32×10^6의 몰비로 포함하고,

[0019] 상기 (A) CTAB-NG는 (a) CTAB가 코팅된 구형 금 나노입자 및 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자를 1:0 - 0:1의 중량비로 포함하는 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서가 개시된다.

[0020] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 (a) CTAB가 코팅된 구형 금 나노입자는 크기가 5-100 nm이고, 상기 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자의 크기는 직경이 8-50 nm이며, 길이가 15-200 nm이고,

[0021] 상기 (a) CTAB가 코팅된 구형 금 나노입자 및 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자는 흡광 파장이 서로 다르며,

[0022] 상기 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자는 CTAB가 코팅된 종방향 로드형 금 나노입자 및 CTAB가 코팅된 횡방향 로드형 금 나노입자를 1 : 1.5-5의 비율로 포함하는 것을 특징으로 한다.

[0023] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 CTAB-NG는 CTAB가 코팅된 구형 금 나노입자 및 CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자를 1-0 : 0-1의 중량비로 포함하고, 상기 범위를 벗어나는 경우에는 육안으로 검출이 어려운 문제점이 있다.

[0024] 또한, 상기 CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자는 CTAB가 코팅된 종방향 로드형 금 나노입자 및 CTAB가 코팅된 횡방향 로드형 금 나노입자를 1 : 1.5-5의 종횡비로 포함하고, 상기 범위를 벗어나는 경우, 특히 1 : 1.5 미만의 종횡비로 포함되는 경우, 금 나노입자의 합성이 어려운 문제점이 있고, 1 : 5 초과의 종횡비로 포함되는 경우, 육안으로 색변화 관찰이 어려운 문제점이 있다.

[0025] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서는 수은 또는 수은 이온과 상기 CTAB-NG가 아말감화, 상기 CTAB-NG의 표면 융착 및 상기 CTAB-NG의 응집 현상이 동시에 일어나 수은이 검출되는 것을 특징으로 한다.

[0026] 본 발명의 구현예에 의하면 상기 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서는 수은 또는 수은 이온과 상기 CTAB-NG가 아말감화(amalgamation), 상기 CTAB-NG의 표면 융착 및 상기 CTAB-NG의 응집 현상이 동시에 일어나면서 상기 수은 또는 수은 이온이 CTAB-NG와 화합물 형태로 존재하여 육안으로 충분히 확인할 수 있을 정도로 수은 또는 수은 이온이 포함되는 용액색이 보라색에서 붉은색으로의 변화가 관찰되므로 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서로 유용하게 사용될 수 있다.

[0027] 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 상기 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서는 Ag^{+}, Hg^{2+}, In^{3+}, Ca^{2+}, Pb^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{3+}, Cd^{2+}, Na^{+} 중에서 선택 되는 1종 이상의 금속 이온의 영향 없이 수은 또는 수은 이온을 선택적으로 검출하는 것을 특징으로 한다.

[0028] 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서는 표면 플라즈몬 공명(SPR) 스펙트럼의 505 nm 및 590 nm 위치에서 두 개의 피크를 나타내고, 흡수율 $A_{505\ nm}/A_{590\ nm}$이 약 3.6인 것을 특징으로 한다.

[0029] 본 발명의 구현예에 의하면, SPR 스펙트럼에서 505 nm 및 590 nm 위치에서 두 개의 피크를 나타내고, 상기 505 nm 피크는 구형 금 나노입자와 종방향 모드 금 나노로드의 표면 플라즈마 공명에 의한 528 nm 피크가 Hg^{2+}의 첨가에 의해 이동된 피크로써, 나노 입자가 Hg^{2+}에 의해 상태변화가 일어났음이 확인되고, 또한, 본 발명에 의한 CTAB-NG의 Hg^{2+}에 대한 선택도를 확인하기 위한 방법으로 흡수율 $A_{505\ nm}/A_{509\ nm}$을 측정한 결과 약 3.6로 다른 금속에 비해 선택도가 매우 높은 것을 나타내었다. 이는 Hg^{2+}의 결합에 따른 색 변화 및 발광 특성의 변화가 뚜렷하고, Hg^{2+}을 검출하기 위한 휴대용 색측정기(colorimetric kit) 및 발광측정기(fluorimetric kit)로 유용하게 사용될 수 있음을 의미한다.

[0030] 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 상기 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서는 최소 1 μM 농도의 수은 또는 수은이온에 대하여 육안으로 검출이 가능하고, 선형 검출능을 가지며, 0-10 μM 범위에서 검출한계 R^2는 0.986이고, 최소 30 nM 농도의 수은 또는 수은 이온에 대하여 광도측정법으로 검출이 가능하며, 선형 검출능을 가지고, 0-5 μM 범위에서 검출한계 R^2는 0.9989인 것을 특징으로 한다.

[0031] 본 발명의 구현예에 의하면, 상기 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서는 선형 검출능을 가지므로 민감도가 증가되어 육안 및 광도측정법으로 검출이 가능하다.

[0032] 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기 수은 또는 수은 이온 선택적 색상-기반 검출센서는 수은 또는 수은 이온의 농도가 증가할수록 색의 변화가 증가하는 것을 특징으로 한다.

[0033] 본 발명의 다른 측면에 따르면, 수은 또는 수은 이온의 선택적 색상-기반 검출 방법으로서;

[0034] (1) (A) 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)가 코팅된 금 나노입자(CTAB-NG)를 포함하는 CTAB-NG 용액에 (B) 아스코르브산을 첨가하여 수용성 CTAB-NG-아스코르브산 용액을 제조하는 단계; 및

[0035] (2) 상기 (1) 단계에서 제조된 CTAB-NG-아스코르브산 용액에 수은 또는 수은 이온을 포함하는 수용액을 첨가하는 단계를 포함하고,

[0036] 상기 (A) 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)가 코팅된 금 나노입자(CTAB-NG) 및 (B) 아스코르브산을 1 : 3×10^{6} - 32×10^{6}의 몰비로 포함하고,

[0037] 상기 (A) CTAB-NG는 (a) CTAB가 코팅된 구형 금 나노입자 및 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자를 1:0 - 0:1의 중량비로 포함하는 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온의 선택적 색상-기반 검출 방법을 개시한다.

[0038] 본 발명의 일 구현예에 의하면, 상기 (a) CTAB가 코팅된 구형 금 나노입자는 크기가 8-30 nm이고, 상기 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자의 크기는 직경이 10-20 nm이며, 길이가 20-45 nm이며,

[0039] 상기 (a) CTAB가 코팅된 구형 금 나노입자 및 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자는 흡광파장이 서로 다르고,

[0040] 상기 (b) CTAB가 코팅된 로드형 금 나노입자는 CTAB가 코팅된 종방향 로드형 금 나노입자 및 CTAB가 코팅된 횡방향 로드형 금 나노입자를 1 : 1.5-5의 비율로 포함하는 것을 특징으로 하는 수은 또는 수은 이온의 선택적 색상-기반 검출 방법을 개시한다.

[0041] 본 발명의 구현예에 의한 수은 또는 수은 이온의 선택적 색상-기반 검출 방법은 정밀한 기기 및 시편 제작을 필요로 하지 않고, 다양한 금속 이온이 존재하는 경우에도 수은 이온에 대한 선택성이 높은 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)가 코팅된 금 나노입자(CTAB-NG와 아스코르브산 혼합 용액을 이용하여 이를 수은 또는 수은 이온과 반응시켜 발생되는 형광 강도 또는 색 변화를 측정함으로써 육안 및 광학적 방법으로 수은 또는 수은 이온을 검출할 수 있다.

[0042] 본 발명의 일 구현예에 따르면, 상기 수은 또는 수은 이온의 선택적 검출은 상기 CTAB-NG를 상기 수은 또는 수은 이온과 반응시켜 보라색에서 붉은색으로의 색 변화를 측정함으로써 수행되는 것을 특징으로 한다.

[0043] 본 발명의 다른 구현예에 따르면, 상기 수은 또는 수은 이온의 선택적 검출 시, Ag^{+}, Hg^{2+}, In^{3+}, Ca^{2+}, Pb^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{3+}, Cd^{2+}, Na^{+} 중에서 선택되는 1종 이상의 금속 이온의 영향 없이 수은 또는 수은 이온을 선택적으로 검출하는 것을 특징으로 한다.

[0044] 본 발명의 또 다른 구현예에 따르면, 상기 수은 또는 수은 이온의 선택적 검출 시, 표면 플라즈몬 공명(SPR) 스펙트럼의 505 nm 및 590 nm 위치에서 두 개의 피크를 나타내고, 흡수율 $A_{505\ nm}/A_{590\ nm}$이 약 3.6인 것을 특징으로 한다.

[0045] 이하에서 실시예 등을 통해 본 발명을 더욱 상세히 설명하고자 하며, 다만 이하에 실시예 등에 의해 본 발명의 범위와 내용이 축소되거나 제한되어 해석될 수 없다. 또한, 이하의 실시예를 포함한 본 발명의 개시 내용에 기초한다면, 구체적으로 실험 결과가 제시되지 않은 본 발명을 통상의 기술자가 용이하게 실시할 수 있음은 명백하다.

[0046] **시료 및 기기**

[0047] 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)는 Fluka에서 구입하였다. 사클로로금(Ⅲ)산 수소, 수소화붕소 나트륨(99%), 실버 나이트라이드, L-아스코르브산(AA), 염화수은, 염화나트륨, 초산카드뮴, 염화칼슘, 질산은, 염화구리, 인듐(III) 아세트산염, 염화철, 염화연, 염화코발트 및 염화아연은 시그마-알드리치에서 구입하였다. 탈이온수(18 MΩ·cm)는 모든 실험에서 사용되었다. 흡광도는 홑빛살 자외선-가시광선(single-beam ultraviolet-visible, UV-Vis) 분광광도계(Optizen 2120UV, Mecasys)를 사용하여 측정하였다. 투과전자현미경(TEM)용 FEI TECNAI 현미경은 300 kV의 가속전압에서 가동하였다. 에너지 디스퍼시브 x-레이 스펙트로스코피(EDS)를 사용한 조성물 분석을 위해, 상기 시료는 검출기를 향해 15° 기울어져 있다. TEM 시료 제조는 상기 시료 용액의 10 ㎕를 표준 탄소가 코팅된 구리 격자에 떨어뜨린 후, 상온에서 건조하였다.

[0048] **실시예 1: 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드로 코팅된 금나노(CTAB-NG)의 제조**

[0049] 금나노는 금나노로드(AuNRs) 합성 방법을 이용한 방법에 따라 제조되었다. 씨드 용액 및 성장 용액은 하기에 기재된 바와 같이 제조하였다.

[0050] **(1) 단계 1: 씨드 용액의 제조**

[0051] 씨드 용액은 0.2 M 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB) 용액 5 mℓ을 400 rpm으로 교반하고, 0.0005 M $HAuCl_4$ 5.0 mℓ과 혼합하였다. 아주 찬 0.010 M $NaBH_4$ 0.60 mℓ을 상기 교반된 용액에 첨가하여 황갈색 용액을 얻었다. 상기 씨드 용액은 2분 동안 계속 격렬하게 교반한 후, 상기 용액을 사용하기 전에 25 ℃에서 5시간 동안 보관하였다.

[0052] **(2) 단계 2: 성장 용액의 제조**

[0053] 금나노 입자의 성장을 위해서 25 ℃온도에서 0.20 M CTAB 125 mℓ을 0.0040 M $AgNO_3$ 용액 1.5 mℓ에 첨가하였다. 상기 용액에 0.0005 M $HAuCl_4$ 125 mℓ을 첨가한 후, 약하게 혼합하였다. 그 후 0.0788 M L-아스크로브산(AA) 75 ㎕을 첨가하였다. 온화한 환원제(mild reducing agent)로써 AA는 상기 용액을 어두운 노란색에서 무색으로 변했다.

[0054] **(3) 단계 3: 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드로 코팅된 금나노의 제조**

[0055] 상기 단계 1에서 제조된 씨드 용액 500 ㎕을 상기 단계 2에서 제조된 성장 용액에 첨가한 후, 상기 용액을 27-30 ℃의 온도에서 24시간 동안 움직이지 않는 상태로 보관하고 반응을 완료하였다. 상기 금나노 농도는 100 %의 합성 수율이라고 가정함으로써 예상하였다.

[0056] **실시예 2: 시료의 제조**

[0057] 검출은 상온에서 수용성 금나노 용액에서 수행되었다. 선택적 검출 실험을 위해서 In^{3+}, Pb^{2+}, Cu^{2+}, Ca^{2+}, Cd^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+}, Na^{+}, Fe^{3+}, Ag^{+} 및 Hg^{2+}을 0.214 nM CTAB-NG 및 5 mM AA를 포함하는 용액 1.2 mℓ에 첨가하였다. Ag^{+} 및 Hg^{2+}의 마지막 농도는 둘 다 25 이고, 다른 금속 이온은 500 이다. 검출 민감도 실험을 위해서 0-50 농도에서 Hg^{2+} 이온은 5 nM AA를 포함하는 금나노 용액 1.2 mℓ에 첨가하였다. 상기 흡광 스펙트럼은 10분 후에 수집하였다.

[0058] **결과**

[0059] **(1) 흡광 스펙트럼**

[0060] 종방향 모드 및 횡방향 모드의 금 나노로드는 짧고 긴 파장에서 두 개의 흡수 밴드를 가진다. 금 나노로는 주변

환경 및 표면 변화에 대하여 표면 플라즈몬 공명(surface plasmon resonance, SPR)에 국한되어 금나노 입자보다 우수한 민감도를 보인다. 금 나노로드의 이런 특성을 이용하여 본 발명자들은 AA를 포함하는 NG를 사용하여 육안 및 분광광도법에서 민감도를 증가시켜서 Hg^{2+}를 측정하기로 하였다. 상기 금나노는 구형 나노입자와 길쭉한 모형의 금 나노로드를 포함하고, 도 1에 나타낸 바와 같이, 흡광 스펙트럼은 각각 528 nm(구형 나노입자 및 종방향 모드 금 나노로드의 표면 플라즈면 공명) 및 590 nm(금 나노로드의 횡방향 모드)에서 두 개의 피크가 측정되었다.

[0061] **(2) 금나노 내의 AA의 시간에 따른 영향**

[0062] 본 발명에서 중요하고 유일한 시약인 AA는 온화한 환원제로써 대상 이온에 대한 환원 환경을 제공하는 중요한 역할을 한다. 먼저, 금 나노입자 상의 AA의 영향을 확인하였다.

[0063] 5 mM AA가 부재(검정색 실선) 및 존재(다른 색의 실선)의 NG 1.2 ml의 흡수 스펙트럼은 도 1에 나타낸 바와 같이, SPR 피크가 짧은 파장으로 이동하는 것으로 확인되었다. 상기 메커니즘은 $NaBH_4$와 유사하고, 산화된 형태의 금은 Au(0)으로 환원되었고, NG 표면에 증착된 것으로 보인다. 상기 흡수 피크는 NG에서 감지된 매체의 환원된 유전 상수 때문에 짧은 파장으로 이동하였고, 그 다음 AA를 포함하는 NG의 SPR 스펙트럼에서 시간에 따른 변화가 3시간 이상 관찰한 결과, NG의 흡광도의 변화는 없고, NG는 AA 환경에서 매우 안전한 것으로 확인되어 이후 실험에 사용되었다.

[0064] 도 1의 파선은 Hg^{2+} 첨가 후 AA 용액을 포함하는 NG의 흡광도 변화를 묘사한 것이다. 상기 종방향 모드에 기인하는 금 나노로드의 흡광도 피크가 사라졌고, 싱글 밴드의 Au-AA-Hg^{2+} 결과를 나타낸다. 이러한 결과는 로드형이 구형으로 전환하는 것을 나타낸다.

[0065] 상기 화학 반응은 하기에 나타낸 바와 같다:

[0066] $HgCl_2 + C_6H_8O_6 \rightarrow HgO + C_6H_6O_6 + 2HCl$ (1)

[0067] $HgO + 3Au \rightarrow Au_3Hg$ (2)

[0068] Hg가 NG와 만났을 때, 세 가지 가능한 메커니즘은 Au 및 Hg 사이의 아말감화; 액체 금속에 의한 NG의 표면 융착; 및 NG의 응집 현상이 관찰 되는 것으로 설명될 수 있다.

[0069] Hg가 증가된 이후 NG에 의해 감지된 매체의 유전 상수가 증가할 수 있고, 상기 NG의 흡광 스펙트럼이 장파장으로 이동하였다. 응집은 NG 용액의 침전물로 나타났고, 스펙트럼에서 레드시프트(red shift) 되었다.

[0070] 한편, 상기 도 1에 나타낸 바와 같이, NG의 SPR의 블루시프트에 의해 응집 가능성이 예상되나, 본 발명에서는 오직 아말감화만이 금 나노로드를 효과적으로 종횡비를 축소하여 흡수파장의 블루시프트를 야기하므로 아말감화가 본 발명에 따른 반응의 주요 메커니즘이라고 예상된다.

[0071] 로드 모양의 금 나노입자는 Hg^{2+}를 첨가한 후 AA 용액에 의해 확인되었고(도 2B 참조), 로드가 아닌 경우에는 Hg^{2+}를 첨가한 후 로드가 존재하지 않았다(도 2C 참조). 또한, 용액색이 보라색(구형 및 로드 모양의 NG)에서 붉은색(금 나노스피어)으로 변한 것으로 확인되었다.

[0072] 도 3은 Hg^{2+}의 부재 및 존재하는 NG의 원소 맵을 나타내는 도면이다. 도 3A에서는 금만이 로드 모양으로 발견되는 반면, 도 3B에서는 Hg 원소의 분산 후, Au가 분산되었다. 이는 Hg가 Au와 함께 화합물 형태로 존재한다는 좋은 증거로서 이러한 결과는 본 발명에 따른 응집 과정이 주요 메커니즘일 것이라는 가정을 강력하게 뒷받침한다.

[0073] **(3) 수은(Ⅲ) 이온의 민감도 및 선택성**

[0074] Hg^{2+}에 대한 AA의 선택도를 평가하기 위해, 동일 조건 하에서 다른 금속 이온을 이용하여 실험을 수행하였고, 도 4에 Ag^{+}, Hg^{2+}, In^{3+}, Ca^{2+}, Pb^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{3+}, Cd^{2+}, 및 Na^{+} 이온이 첨가된 NG의 색 변화(도 4A 참조)

및 UV-Vis 스펙트럼(도 4B 참조)을 나타내었다.

[0075] 그 결과 오직 Hg^{2+}에서 용액의 색이 변하였고, AA는 Hg^{2+}에서 선택적인 것으로 나타났으며, Hg^{2+} 첨가 후, NG의 높은 SPR 피크가 528 nm에서 505 nm로 이동하는 반면에 590 nm에서 두 번째 피크가 사라진 것으로 나타났다. 이에, 선택성은 505 nm 및 590 nm에서 흡수율(즉, $A_{505\ nm}/A_{590\ nm}$)을 이용하여 분석하였다. 4B에 나타낸 바와 같이, 25 μM Hg^{2+}를 첨가한 용액은 $A_{505\ nm}/A_{590\ nm}$ 값이 약 3.6이고, 다른 금속 이온(500)은 무처리군과 유사한 값을 나타내었으며, 다른 금속 이온의 20 배 높은 농도는 Hg^{2+}의 측정을 방해하지 않음을 나타낸다.

[0076] 최적의 조건에서, Hg^{2+}에 대한 NG의 민감도를 측정하였다. 도 5는 5 mM AA와 다른 농도(0-50)의 Hg^{2+}를 포함하는 CTAB로 코팅된 NG 용액 1.2 ㎖의 색 변화 및 UV-vis 흡수 반응을 나타내는 사진이다. 확실하게도 Hg^{2+} 농도가 증가함에 따라 높은 SPR 피크가 짧은 파장으로 이동하였고, 두 번째 피크는 완전히 사라졌다. 도 5A는 NG 용액 내의 2.5 Hg^{2+}의 육안으로 관측될 정도로 가능하게 하는 비교적 단계적인 뚜렷한 색 변화를 나타낸다. 더 자세한 분석으로 상기 SPR 피크 파장을 Hg^{2+} 농도에 대비하여 나타내었다(도 6A 참조). 상기 Hg^{2+} 농도가 증가됨으로써, 상기 SPR 피크는 짧은 파장으로 이동하였다. 선형 관계는 1-10 농도의 Hg^{2+}로부터 얻었고, 상관계수 R^2는 0.985이다. 파장 시프는 10 Hg^{2+}에서 대략 15 nm이다. 게다가 상기 $A_{505\ nm}/A_{590\ nm}$ 비는 Hg^{2+} 농도에 대비하여 나타났다(도 6B 참조). 도 6B에서 R^2가 0.987인 0-10 μM 범위에서 선형 관계를 나타낸다. 상기 프로브는 UV-vis 스펙트럼을 이용하여 122 nM의 낮은 농도에서 Hg^{2+}를 검출할 수 있다.

[0077] **(4) 검출한계(LOD)에 대한 금나노 영향**

[0078] 검출한계(LOD)는 $LOD=3\times s_R/m$으로 계산할 수 있고, 여기에서 m은 검량선 기울기이고, s_R은 표준편차이다.

[0079] Hg의 LOD에서 NG에 대한 효과를 조사하기 위해 NG II 검출 시스템으로 실험하였다. NG II 용액 흡수 스펙트럼을 도 7A에 나타내었다(검정색 실선). 상기 NG II 시료는 파랑색으로 나타났다(도 7A 상단 참조). 앞서 언급한 바와 같이, NG의 색은 크기, 모양 및 표면 조건에 의존한다. 도 S1은 구형, 로드형 및 삼각형의 다양한 모양을 포함하는 NG II를 나타낸다. 이러한 금 나노파티클의 SPR 특성을 조합하면, NG II는 세 개 SPR 피크와 어두운 파랑색으로 나타났다. NG II를 사용하여 Hg^{2+}의 LOD를 측정하기 위해 0 내지 5 농도의 Hg^{2+}를 포함하는 NG II의 흡수 스펙트럼을 측정하였다(도 7A 참조). 육안을 통해, 1 의 Hg^{2+}는 단계적인 색 변화를 바탕으로한 NG II 용액에서 검출될 수 있다(도 7A 사진 참조). SPR 흡수 파장 분석을 선택한 후(데이터는 보이지 않음), $A_{532}\ nm/A_{600}\ nm$ 비율은 도 7B에 나타낸 바와 같이 Hg^{2+} 농도에 대비하여 나타내었다. 이는 0-5 범위에서 R^2 = 0.9989로 우수한 선형 관계를 나타내고, NG II를 사용한 LOD는 30 nM이다. 상기 LOD는 NG의 SPR 흡광도 변화에 의해 증가되었다. 이러한 결과는 흥미롭고, 우수한 감도 및 낮은 LOD는 다른 무거운 금속 이온 검출 시스템보다 Hg^{2+}의 SPR 흡광도를 활용하여 예상할 수 있다.

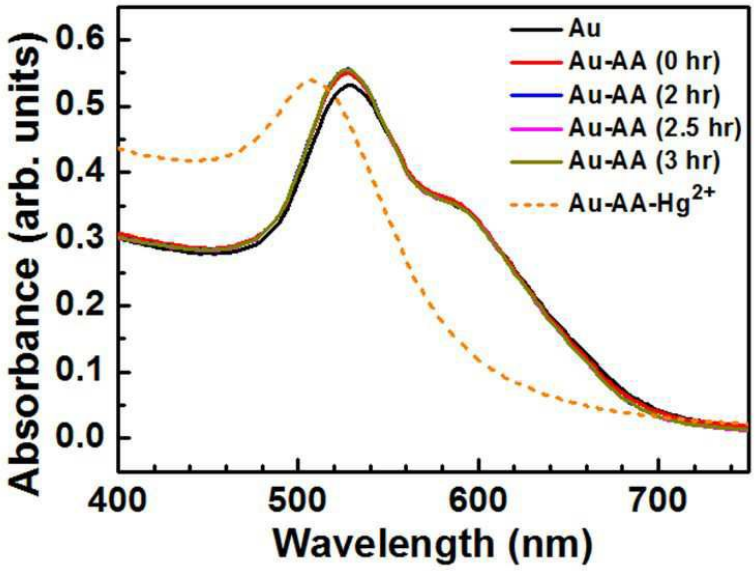
[0080] 환원제로 AA를 사용하여 간단하고, 직접적이고, 친환경적인 CTAB로 코팅된 NG의 색 변화를 기초로 한 수은 이온 검출 방법을 고안하였다. 상기 주요 메커니즘, 즉, 아말감법은 UV-vis 및 에너지 디스퍼시브 x-레이 스펙트로스코피(ESD) 분석을 이용하여 입증하였다. 본 발명에 따른 검출 방법은 쉽고, 시료 전처리과정이 필요하지 않으며, 매우 간단하다. 모든 과정이 최소 5분 내에 수행될 수 있다. AA가 무해하므로 상기 방법은 생체 또는 환경에 해롭지 않다. 상기 민감도는 구형 및 로드형 나노입자의 혼합물에 의해 야기되는 NG의 SPR 흡광도 변화에 의해 증가될 수 있다. 상기 기술을 사용하는 것은 1 만큼 낮은 농도의 Hg^{2+}를 육안으로 관찰할 수 있고, UV-vis 스펙트럼을 사용하여 30 nM까지 검출할 수 있다.

[0081] 이에, 본 발명의 여러 구현예에 따르면, 수은 또는 수은 이온의 선택적 색상-기반 검출센서 및 이를 이용한 검출 방법은 정밀한 기기 및 시편 제작을 필요로 하지 않고, 종래 표면 개질 방식이 아닌 표지기가 없는 순수한 금 나노입자만을 사용할 수 있는 장점이 있고, 다양한 금속 이온이 존재하는 경우에도 수은 이온에 대한 선택성

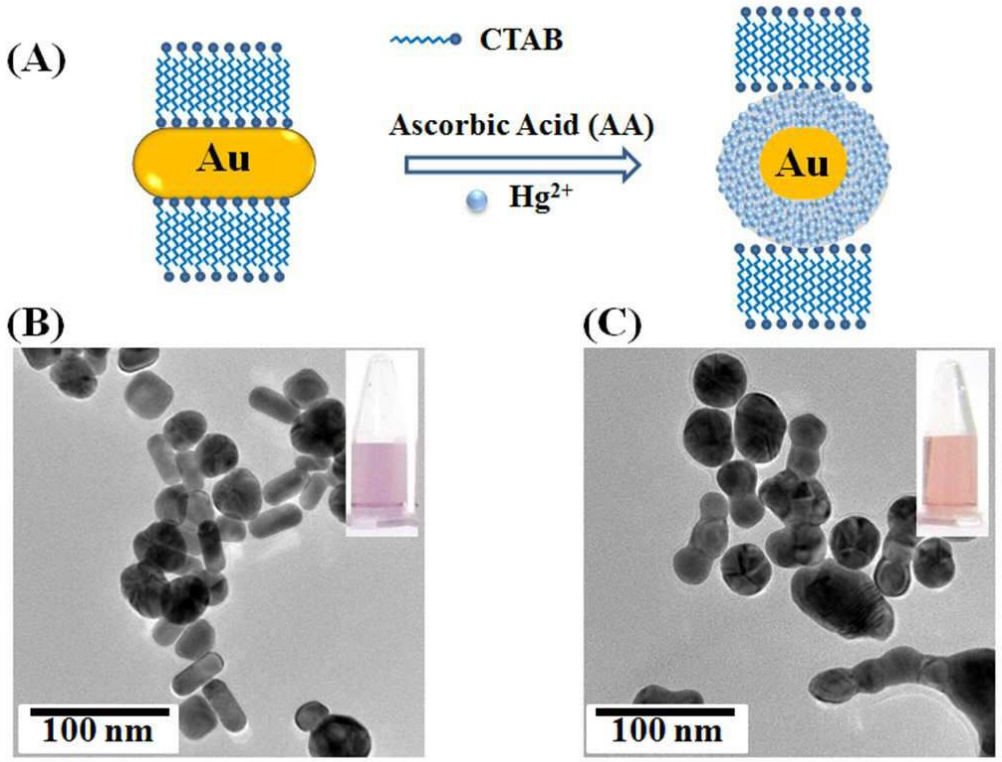
이 높은 헥사데실트리메틸암모늄 브로마이드(CTAB)가 코팅된 금 나노입자(CTAB-NG와 아스코르브산 혼합 용액을 이용하여 이를 수은 또는 수은 이온과 반응시켜 발생되는 형광 강도 또는 색 변화를 측정함으로써 육안 및 광학적 방법으로 수은 또는 수은 이온을 검출할 수 있으므로 간단하고, 빠르며, 비용절감 효과가 있고 안전하므로 수은 이온의 즉각적인 검출 즉, 휴대용 색측정기(colorimetric kit) 및 발광측정기(fluorimetric kit)로 유용하게 사용될 수 있는 효과를 달성할 수 있다.

도면

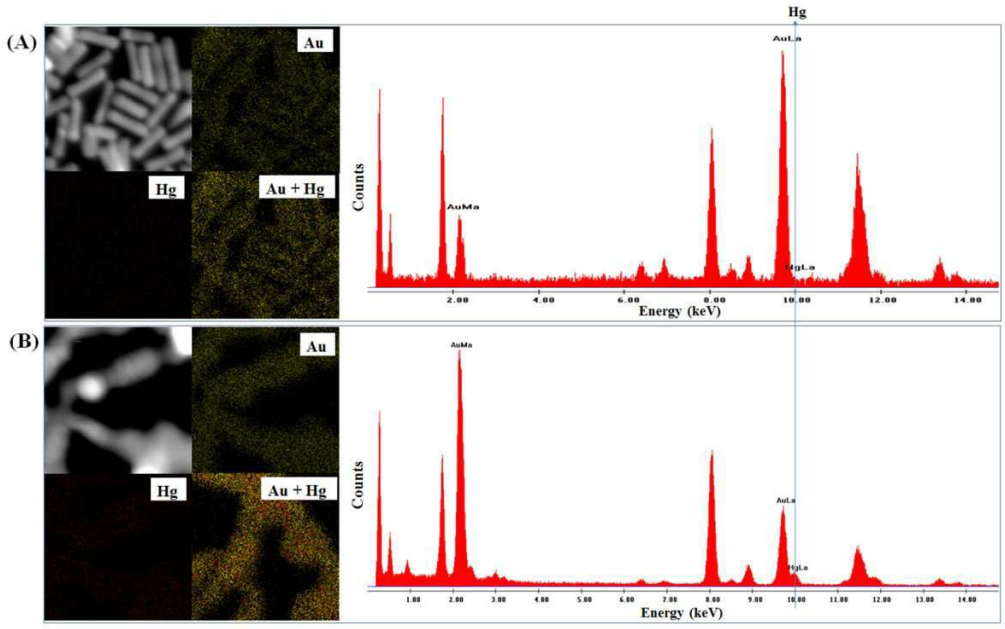
도면1



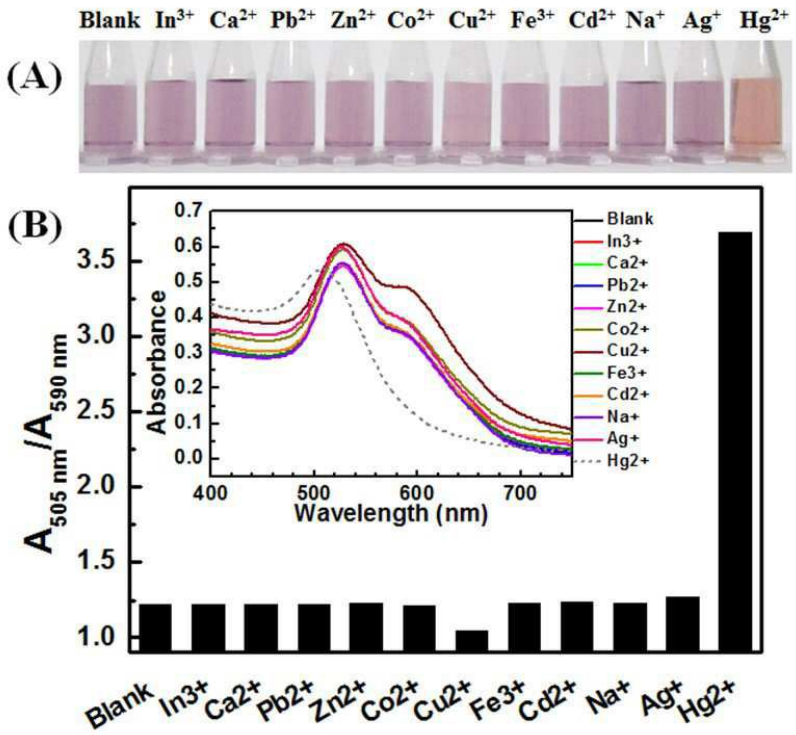
도면2


(A)
Au
CTAB
Ascorbic Acid (AA)
Hg^{2+}
Au
(B)
100 nm
(C)
100 nm

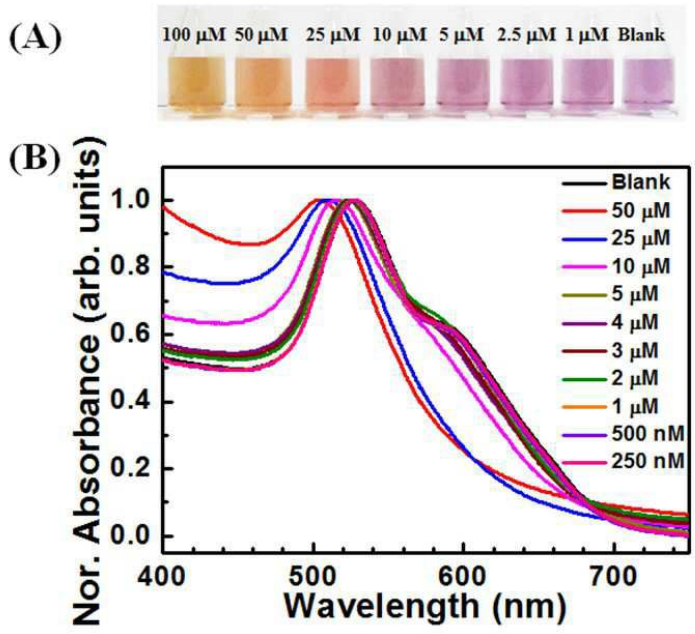
도면3


(A)
Au
Hg
Au + Hg
Hg
Counts
AuMa
AuLa
Energy (keV)
(B)
Au
Hg
Au + Hg
Counts
AuMa
AuLa
Energy (keV)

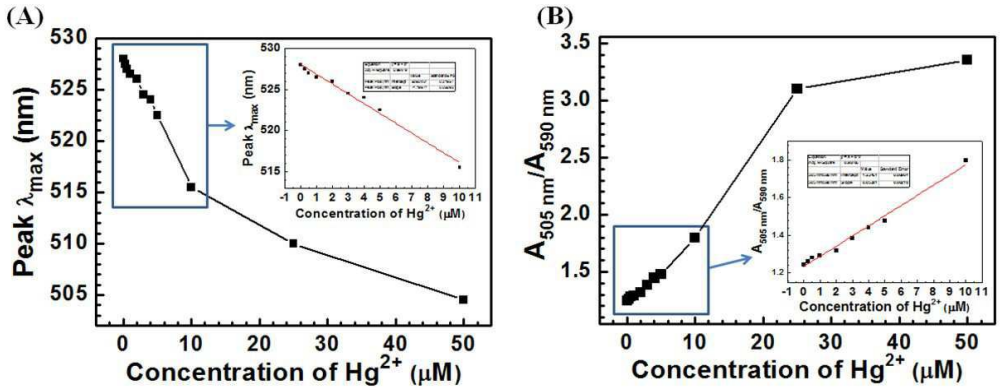
도면4


(A)
Blank In3+ Ca2+ Pb2+ Zn2+ Co2+ Cu2+ Fe3+ Cd2+ Na+ Ag+ Hg2+
(B)
A505 nm/A590 nm
Absorbance
Wavelength (nm)
Blank
In3+
Ca2+
Pb2+
Zn2+
Co2+
Cu2+
Fe3+
Cd2+
Na+
Ag+
Hg2+

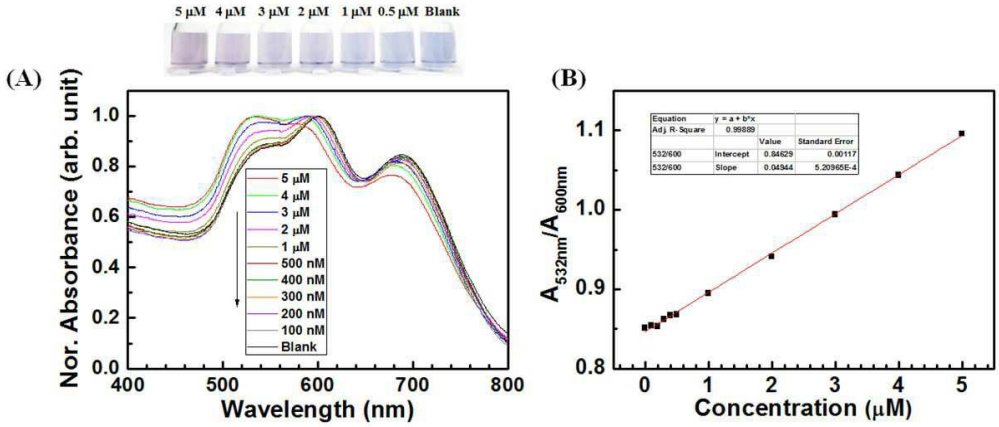
도면5


(A)
100 μM 50 μM 25 μM 10 μM 5 μM 2.5 μM 1 μM Blank
(B)
Nor. Absorbance (arb. units)
Wavelength (nm)
Blank
50 μM
25 μM
10 μM
5 μM
4 μM
3 μM
2 μM
1 μM
500 nM
250 nM

도면6


(A)
Peak λmax (nm)
Concentration of Hg2+ (μM)
Peak λmax (nm)
Concentration of Hg2+ (μM)
(B)
A505 nm/A590 nm
Concentration of Hg2+ (μM)
A505 nm/A590 nm
Concentration of Hg2+ (μM)

도면7


5 μM 4 μM 3 μM 2 μM 1 μM 0.5 μM Blank
(A)
Nor. Absorbance (arb. unit)
Wavelength (nm)
5 μM
4 μM
3 μM
2 μM
1 μM
500 nM
400 nM
300 nM
200 nM
100 nM
Blank
(B)
A532nm/A600nm
Concentration (μM)
Equation y = a + b*x
Adj. R-Square 0.99889
Value Standard Error
532/600 Intercept 0.84629 0.00117
532/600 Slope 0.04944 5.20966E-4

도면8

