



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2008년07월08일
(11) 등록번호 10-0844407
(24) 등록일자 2008년07월01일

(51) Int. Cl.

G01N 23/20 (2006.01) G01N 21/35 (2006.01)

(21) 출원번호 10-2007-0026092

(22) 출원일자 2007년03월16일

심사청구일자 2007년03월16일

(56) 선행기술조사문헌

KR1019960014920 A

JP60224223 A

JP1020000037951 A

(73) 특허권자

인하대학교 산학협력단

인천 남구 용현동 253 인하대학교

(72) 발명자

이중무

인천 남구 용현동 253 인하대학교 신소재공학부

조용준

인천 남구 용현동 253 인하대학교 신소재공학부

김호진

인천 남구 용현동 253 인하대학교 신소재공학부

(74) 대리인

이원희

전체 청구항 수 : 총 8 항

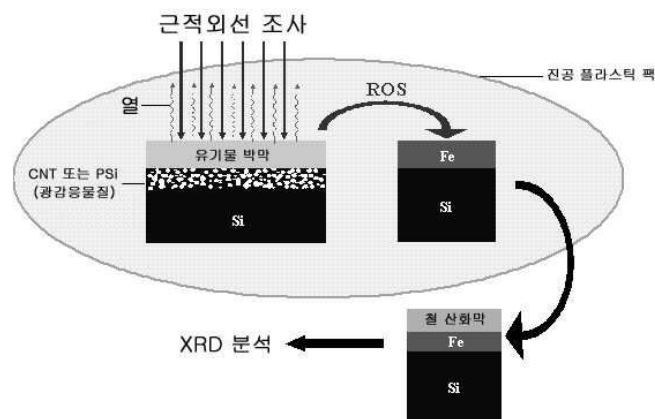
심사관 : 박기석

(54) X선 회절 분석을 이용한 활성산소의 정량적 측정방법

(57) 요약

본 발명은 X선 회절 분석을 이용한 활성산소의 정량적 측정방법에 관한 것으로, 더욱 구체적으로는 실리콘 기판 위에 광감응물질을 증착하고 상기 광감응물질 위에 유기물 박막이 코팅된 광감응물질 시편과 실리콘 기판 위에 피산화제 박막이 증착된 피산화제 박막 시편을 준비하는 단계(단계 1); 상기 단계 1에서 얻은 두 시편을 하나의 팩에 진공포장시키는 단계(단계 2); 상기 단계 1의 광감응물질과는 다른 종류의 광감응물질이 증착된 광감응물질 시편과 단계 1의 피산화제 박막 시편을 준비하여 이들 두 시편을 별도의 팩에 진공 포장시키는 단계(단계 3); 상기 단계 2 및 3의 진공 팩에 800~1000 nm의 근적외선을 조사하여 활성산소를 발생시키는 단계(단계 4); 및 상기 상이한 광감응물질 시편으로부터 발생된 활성산소에 의해 산화된 각각의 피산화제 박막 시편에 대해 X선 회절 분석을 수행하는 단계(단계 5)를 포함하는 X선 회절 분석을 이용한 활성산소의 정량적 측정방법을 제공함으로써, 피산화제 박막인 철 박막에 형성된 Fe_2O_3 (104) 및 Fe_3O_4 (440) 피크의 강도 비로부터 철 박막의 두께를 구하고, 이로부터 활성산소의 양을 구할 수 있다.

대표도 - 도1



특허청구의 범위

청구항 1

실리콘 기판 위에 광감응물질을 증착하고 상기 광감응물질 위에 유기물 박막이 코팅된 광감응물질 시편과 실리콘 기판 위에 피산화제 박막이 증착된 피산화제 박막 시편을 준비하는 단계(단계 1);

상기 단계 1에서 얻은 두 시편을 하나의 팩에 진공포장시키는 단계(단계 2);

상기 단계 1의 광감응물질과는 다른 종류의 광감응물질이 증착된 광감응물질 시편과 단계 1의 피산화제 박막 시편을 준비하여 이들 두 시편을 별도의 팩에 진공 포장시키는 단계(단계 3);

상기 단계 2 및 3의 진공 팩에 800~1000 nm의 근적외선을 조사하여 활성산소를 발생시키는 단계(단계 4); 및

상기 상이한 광감응물질 시편으로부터 발생된 활성산소에 의해 산화된 각각의 피산화제 박막 시편에 대해 X선 회절 분석을 수행하는 단계(단계 5)

를 포함하는 것을 특징으로 하는 X선 회절 분석을 이용한 활성산소의 정량적 측정방법.

청구항 2

제1항에 있어서, 상기 광감응물질은 다공성 실리콘(PSi), 탄소나노튜브(CNT), 금(Au), 산화아연(ZnO), 이산화티탄(TiO₂)으로 이루어지는 군으로부터 선택적으로 선택되는 1종 이상인 것을 특징으로 하는 X선 회절 분석을 이용한 활성산소의 정량적 측정방법.

청구항 3

제1항에 있어서, 상기 피산화제는 철 또는 구리인 것을 특징으로 하는 X선 회절 분석을 이용한 활성산소의 정량적 측정방법.

청구항 4

제3항에 있어서, 상기 피산화제가 철인 것을 특징으로 하는 X선 회절 분석을 이용한 활성산소의 정량적 측정방법.

청구항 5

제1항에 있어서, 상기 유기물 박막은 체세포 대용으로서 바셀린을 사용하는 것을 특징으로 하는 X선 회절 분석을 이용한 활성산소의 정량적 측정방법.

청구항 6

제1항에 있어서, 단계 4에 기재된 활성산소의 방출량은 상이한 광감응물질로부터 발생되는 활성산소에 의해 산화되는 정도가 다른 각각의 피산화제 박막 층의 두께 차이로부터 X선 회절 강도의 차이에 의해 결정되는 것을 특징으로 하는 X선 회절 분석을 이용한 활성산소의 정량적 측정방법.

청구항 7

제6항에 있어서, 상기 피산화제 박막층 두께의 비는,

상기 피산화제가 철(Fe)인 경우,

$$\frac{I_{Fe_2O_3(CNT)(104)} I_{Si(PSi)(400)}}{I_{Fe_2O_3(PSi)(104)} I_{Si(CNT)(400)}} = \frac{t_{Fe_xO_y(CNT)}}{t_{Fe_xO_y(PSi)}} \quad \text{또는}$$

$$\frac{I_{Fe_3O_4(CNT)(440)} I_{Si(PSi)(400)}}{I_{Fe_3O_4(PSi)(440)} I_{Si(CNT)(400)}} = \frac{t_{Fe_xO_y(CNT)}}{t_{Fe_xO_y(PSi)}} \quad \text{으로부터 측정되는 것을 특징으로 하는 X선 회절 분석을 이용한 활성산소의 정량적 측정방법.}$$

(상기 식에서,

$I_{Fe_2O_3(CNT)(104)}$ 는 CNT가 증착된 Si(100) 시편과 철 박막이 증착된 Si(100) 시편으로 구성된 진공 팩으로부터 꺼낸 Fe_3O_4 층이 형성된 철 박막이 증착된 Si(100) 시편의 $Fe_2O_3(104)$ 회절에 대한 회절 강도를 나타내고,

$I_{Fe_2O_3(PSi)(104)}$ 는 PSi가 증착된 Si(100) 시편과 철 박막이 증착된 Si(100) 시편으로 구성된 진공 팩으로부터 꺼낸 Fe_3O_4 층이 형성된 철 박막이 증착된 Si(100) 시편의 $Fe_2O_3(104)$ 회절에 대한 회절 강도를 나타내고,

$I_{Fe_3O_4(CNT)(440)}$ 은 CNT가 증착된 Si(100) 시편과 철 박막이 증착된 Si(100) 시편으로 구성된 진공 팩으로부터 꺼낸 Fe_3O_4 층이 형성된 철 박막이 증착된 Si(100) 시편의 $Fe_3O_4(440)$ 회절에 대한 회절 강도를 나타내고,

$I_{Fe_3O_4(PSi)(440)}$ 은 PSi가 증착된 Si(100) 시편과 철 박막이 증착된 Si(100) 시편으로 구성된 진공 팩으로부터 꺼낸 Fe_3O_4 층이 형성된 철 박막이 증착된 Si(100) 시편의 $Fe_3O_4(440)$ 회절에 대한 회절 강도를 나타내고,

$I_{Si(PSi)(400)}$ 과 $I_{Si(CNT)(400)}$ 은 다공성 Si 시편에서의 기판 Si에 대한 (400) 회절 강도와 CNT 시편에서의 기판 Si에 대한 (400) 회절 강도를 나타내고,

$t_{Fe_xO_y(CNT)}$ 는 CNT로부터 발생되는 활성산소에 의해 철 박막에 형성된 산화막의 두께를 나타내며,

$t_{Fe_xO_y(PSi)}$ 는 PSi로부터 발생되는 활성산소에 의해 철 박막에 형성된 산화막의 두께를 나타낸다.)

청구항 8

제7항에 있어서, 상기 두께비는

$$\frac{I_{Fe_2O_3(CNT)(104)} I_{Si(PSi)(400)}}{I_{Fe_2O_3(PSi)(104)} I_{Si(CNT)(400)}} = \frac{t_{Fe_xO_y(CNT)}}{t_{Fe_xO_y(PSi)}}, \text{ 및}$$

$$\frac{I_{Fe_3O_4(CNT)(440)} I_{Si(PSi)(400)}}{I_{Fe_3O_4(PSi)(440)} I_{Si(CNT)(400)}} = \frac{t_{Fe_xO_y(CNT)}}{t_{Fe_xO_y(PSi)}} \text{의 평균값으로부터 측정되는 것을 특징으로 하는 X선 회절 분석을 이용한 활성산소의 정량적 측정방법.}$$

명세서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

- <3> 본 발명은 X선 회절 분석을 이용한 활성산소의 정량적 측정방법에 관한 것으로, 특히, 금속 박막을 피산화제로 사용하여 활성산소에 의하여 형성되는 산화철 층의 두께를 X선 회절 분석에 의하여 측정함으로써 활성산소의 양을 간접적으로 측정하는 기술에 대한 것이다.
- <4> 현재의 모든 암 치료법(예컨대, 방사능 요법 및 화학 요법)들은 급속하게 증식되는 세포들을 공격하는 역할을 하고 있다. 불행히도, 이러한 공격은 암세포만을 파괴하는 데 그치지 않고 일부 정상세포도 파괴하게 된다. 그 결과, 이러한 치료법은 때로 생명을 위협할 수도 있는 심각한 부작용을 수반할 뿐 아니라, 이러한 요법은 실제로 천연의 항-종양 방어기제를 저하시킬 수 있다. 예컨대, 방사능 및 화학 요법은 면역계의 급속분할되는 세포들에게 피해를 주고, 항-종양 및 항-감염 응답을 억압한다.
- <5> 이러한 부작용을 생성시키는 외에도, 현재 사용되는 요법들은 암세포만을 특정하게 공격하는 효율이 떨어지기

때문에 대체로, 목적하는 효과 강도를 달성하지 못하고 있다. 결과적으로, 화학 요법 또는 방사능 요법, 또는 이들의 조합으로는 암을 효과적으로 치유할 수 없다. 따라서, 암의 주된 치료법은 현재 암세포를 외과적으로 제거하는 것이다. 이 방법은 흔히 보조적으로 방사능 요법 및 화학 요법과 병용되어 이루어지고 있으며, 치료를 위해서는 모든 암세포를 파괴하기 위해, 환자의 신체를 외과적으로 절단하고 독성이 높은 치료법을 사용해야만 하는 실정이다.

- <6> 이와 같은 암 치료의 폐해를 최소화하고 전체적인 효능을 증진시키기 위한 노력의 일환으로, 광역동 요법(Photodynamic therapy; PDT)이 개발되었다. 광역동 요법은 처방을 암세포에 국소화(localization)시키기 위한 광감응물질(photosensitizing agent)을 인체에 투여하고, 이어서 광감응물질을 함유하는 암세포에 특이적이고 적절한 파장의 빛을 조사하는 것으로 이루어진다. 따라서, PDT는 적절한 파장의 활성화 광을 부위-특이적으로 적용할 수 있으므로, 광감응물질과 부위-특이적인 광조사를 병용하여 암과 같은 특정 조직에서 치료적인 반응을 생성시킬 수 있다.
- <7> 종래의 PDT는 암세포를 파괴하는 데 있어 광감응물질에 빛이 조사될 때 생성된 활성산소(reactive oxygen species; ROS)를 이용하여 암세포를 파괴하는 방법으로, PDT의 광감응물질이 갖추어야할 조건은 다음과 같다.
- <8> 첫째, ROS를 생산하는 양자수율이 높고,
- <9> 둘째, 흡수하는 광의 파장이 길어야 하며,
- <10> 셋째, 조사하지 않는 상태에서 독성이 낮아야 한다는 것이다.
- <11> 따라서, 방향족 분자 또는 염료 분자들이 ROS를 생성시키는 능력을 갖고 있어 지난 수십 년간 의료계에서 광감응물질로 사용되어 왔고, 최근에는 이산화티탄(TiO_2), 산화아연(ZnO), 금(Au), 탄소나노튜브(carbon nanotube; CNT), 다공성 실리콘(porous silicon; PSi) 및 풀러렌(fullerene) 등의 나노물질이 ROS를 생성시킬 수 있는 새로운 PDT 광감응물질로 보고되고 있다.
- <12> 그러나, 다른 한편으로는 ROS는 단일산소($^1\text{O}_2$), O_2^- 및 $\cdot\text{OH}$ 등의 불안정한 화학종을 포함하며, 이들은 광생물학적 활동을 통해 세포에 돌이킬 수 없는 손상을 줄 수 있다. 또한, ROS가 인체에 미치는 부작용에 대한 많은 보고가 이뤄지고 있는데 그 부작용은 다음과 같다.
- <13> 첫째로, 단기적으로 인체가 빛에 노출될 때 피부가 부풀거나 붉은 반점이 생기고 통증을 느낀다. 또한, 입맛이 가시고 침을 삼키면 목이 아픈 등의 부작용이 6주 이상 지속된다.
- <14> 둘째로, 장기적으로는 ROS가 인체의 DNA, 단백질 및 지방질과 같은 생물학적 분자들과 반응하여 조직 및 기능에 손상을 입힌다.
- <15> 셋째로, 상기 형태로 체내에 축적된 산화성 손상은 급기야 심장병 또는 암 등의 성인병을 유발할 수 있다.
- <16> 한편, 최근 단일벽 탄소나노튜브(single-wall carbon nanotube : SWCNT)를 암치료제로 사용하는 새로운 PDT 테크닉이 발표되어 비상한 관심을 끌고 있다. 이 새로운 PDT에서 사용되는 CNT는 파장범위 700~800 nm의 근적외선을 흡수하여 열을 방출하는데, 이 열로 암세포를 효과적으로 파괴할 수 있다. 즉, 염산이나 항체를 바른 CNT를 세포이물흡수법 등의 테크닉으로 세포 내에 투입하면, 암세포는 항체 수용체를 많이 함유하고 있기 때문에 주입된 CNT가 암세포를 찾아 암세포가 있는 곳으로 이동하게 된다. 이때 인체 외부에서 근적외선을 조사해 주면, CNT가 근적외선을 흡수하게 된다. 이 흡수된 근적외선의 에너지로 인해 CNT 내부에 존재하는 여기되어(excited) 있던 전자들이 가전자대로 내려오면서 열을 방출하게 되는데, 이 열이 주변의 암세포들을 파괴함으로써 암치료를 가능케 해준다. 종래의 PDT는 가시광선을 조사함으로써 광감응물질로부터 방출되는 ROS를 이용하여 암세포를 죽이는 반면, 본 발명의 새로운 PDT는 근적외선을 조사함으로써 광감응물질로부터 방출되는 열을 이용하여 암세포를 파괴한다는 차이가 있다. 가시광선은 인체 표면으로부터 수 mm 밖에 침투하지 못하므로 종래의 PDT로는 피부 가까이 존재하는 암세포만을 파괴할 수 있는 반면, 근적외선은 인체를 잘 통과하므로 새로운 PDT로는 체내 깊숙이 위치한 암세포도 잘 제거할 수 있다. 이 새로운 PDT에서는 열방출 효율은 높을수록 좋지 만 근적외선 조사시 부작용을 일으킬 뿐 암치료에 하등의 필요가 없는 ROS의 방출량이 적을수록 좋다.
- <17> 아무튼, 종래의 PDT와 새로운 PDT 어느 쪽이건 간에 광감응물질에 대한 ROS 방출 효율을 정확히 아는 것이 중요하다.
- <18> 그런데 최근 야마코시(Yamakoshi) 등의 보고에 의하면, 광감응물질에 광을 조사할 때 $^1\text{O}_2$ 뿐만 아니라 O_2^- 및

·OH 등의 불안정한 화학종도 함께 생성되며, 이들도 세포를 파괴하는 역할을 한다고 한다. 그러므로 $^1\text{O}_2$, O_2^- , ·OH를 포함하는 모든 ROS의 방출 효율을 측정할 수 있어야 한다. 지난 십 수년간 ROS 측정을 위한 여러 가지 테크닉들이 개발되었지만, 이 테크닉들로는 대부분 $^1\text{O}_2$ 의 생성에 대한 양자수율만을 측정할 수 있다 (Carre, C. et al., J. Chim. Phys. Phys-Chim. Biol., 84: 577-85 (1987); Darmany, A.P., Chem. Physics. Lett., 91: 391-400 (1982); Chattopadhyay, S.K. et al., J. Photochem., 24: 1-9 (1984); Olmsted, J., III, J. Am. Chem. Soc. 102: 66-71 (1980); Rossbroich, G. et al., J. Photochem., 31: 37-48 (1985); Heihoff, K. et al., Photochem. Photobiol., 51: 634-41 (1990); Chattopadhyay, S.K. et al., J. Photochem., 24: 1-9 (1984); Garner, A. et al., Singlet Oxygen, Reactions with Organic Compounds and Polymers. B. Ranby and J.F. Rabek(eds.), John Wiley & Sons, New York, N.Y., 1976, p.48-53.).

<19> 본 발명은 이러한 요구에 부응하는, 광조사시 광감응물질로부터 방출되는 모든 종류의 ROS의 양을 한꺼번에 측정할 수 있는 분석 테크닉에 관한 것이다.

<20> 한편, X선 회절분석(X-ray diffraction; XRD) 테크닉에 의하여 ROS를 효율적으로 측정할 수 있는 이론적 배경은 다음과 같다:

<21> X선 회절기에서 단상 분말 시편의 강도에 대한 정확한 표현은 하기 수학적 식 1로 표현된다.

수학적 식 1

$$I = \left(\frac{I_0 A \lambda^3}{32\pi r} \right) \left[\left(\frac{\mu_0}{4\pi} \right)^2 \frac{e^4}{m^2} \right] \left(\frac{1}{v^2} \right) [|F|^2 p \left(\frac{1 + \cos^2 2\theta}{\sin^2 \theta \cos \theta} \right)] \left(\frac{e^{-2M}}{2\mu} \right)$$

<22>

<23> 상기 식에서, I 는 회절선의 단위길이당 적분 강도, I_0 는 입사빔의 강도, A 는 입사빔의 단면적, λ 는 입사빔의 파장, r 은 회절기 원의 반경, μ_0 는 $4\pi \times 10^{-7} \text{ m kg C}^{-2}$, e 는 전자의 전하(C), m 은 전자의 질량(kg), v 은 단위정의 부피 (m^3), F 는 구조 인자, p 는 다중도 인자, θ 는 브라그 각, e^{-2M} 은 온도 인자 및 μ 는 흡수 인자 $1/2 \mu$ 로 들어가는 직선적 흡수계수이다.

수학적 식 2

$$K = \left(\frac{I_0 A \lambda^3}{32\pi r} \right) \left[\left(\frac{\mu_0}{4\pi} \right)^2 \frac{e^4}{m^2} \right]$$

<24>

수학적 식 3

$$R = \left(\frac{1}{v^2} \right) [|F|^2 p \left(\frac{1 + \cos^2 2\theta}{\sin^2 \theta \cos \theta} \right)] e^{-2M}$$

<25>

수학적 식 4

$$I = \frac{KR}{2\mu}$$

<26>

<27> K 와 R 을 각각 상기 수학적 식 2 및 3과 같이 두면 회절 강도는 상기 수학적 식 4와 같이 주어진다. 상기 수학적 식 4에서, XRD 테스트 조건이 일정하다면 K 는 상수이고, R 은 회절되는 물질의 종류 및 결정학적 배향성에 의존하며 μ 는 회절되는 물질의 흡수계수이다.

<28> 여러 원소로 구성되어 있는 다성분계의 i 번째 원소에 대해서 수학적 식 4를 다음과 같이 나타낼 수 있다.

수학적 식 5

$$I_i = \frac{KR_i}{2\mu_m} C_i$$

<29>

<30> 상기 수학식 5에서, C_i 는 i 번째 원소의 부피분율, μ_m 은 다성분계의 흡수계수를 나타낸다. 흡수는 원자 스케일에서 일어나는 현상이므로 다성분계는 그 성분의 수만큼 많은 순수한 원소들 각각으로 이루어진 슬라브들 즉, 다층계로 생각할 수 있다. 수학식 4의 표현과 유사하게, 다층계의 i 번째 층에 대해 수학식 3을 다음과 같이 나타낼 수 있다.

수학식 6

$$I_i = \frac{KR_i}{2\mu_T} C_i$$

<31>

<32> 상기 수학식 6에서, C_i 는 i 번째 층의 부피분율, μ_T 는 다층시편의 전체흡수계수를 나타낸다.

<33> 상기 식 및 XRD 측정값을 이용하여 광감응물질이 근적외선 영역의 빛에 노출될 때 발생하는 ROS의 방출량을 효율적으로 측정할 수 있다.

<34> 이에, 본 발명자들은 여러 부작용을 유발하는 활성산소의 발생이 억제된 광감응물질을 연구하던 중, 근적외선 영역의 빛에 노출된 PSi 또는 CNT로부터 방출된 활성산소의 양을 X선 회절 분석을 이용하여 간접적으로 측정하는 신뢰성 및 재현성이 우수한 방법을 개발함으로써 본 발명을 완성하였다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<35> 따라서, 본 발명은 광감응물질이 근적외선 영역의 빛에 노출될 때 발생하는 활성산소를 측정하는 방법을 제공하는 데 목적이 있다.

발명의 구성 및 작용

<36> 상기의 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 실리콘 기판 위에 광감응물질을 증착하고 상기 광감응물질 위에 유기물 박막이 코팅된 광감응물질 시편과 실리콘 기판 위에 피산화제 박막이 증착된 피산화제 박막 시편을 준비하는 단계(단계 1); 상기 단계 1에서 얻은 두 시편을 하나의 팩에 진공포장시키는 단계(단계 2); 상기 단계 1의 광감응물질과는 다른 종류의 광감응물질이 증착된 광감응물질 시편과 단계 1의 피산화제 박막 시편을 준비하여 이들 두 시편을 별도의 팩에 진공 포장시키는 단계(단계 3); 상기 단계 2 및 3의 진공 팩에 800~1000 nm의 근적외선을 조사하여 활성산소를 발생시키는 단계(단계 4); 및 상기 상이한 광감응물질 시편으로부터 발생된 활성산소에 의해 산화된 각각의 피산화제 박막 시편에 대해 X선 회절 분석을 수행하는 단계(단계 5)를 포함하는 X선 회절 분석을 이용한 활성산소의 정량적 측정방법을 제공한다.

<37> 이하, 본 발명을 상세하게 설명한다.

<38> 본 발명은 XRD 테크닉으로부터 활성산소(reactive oxygen species; ROS)를 정량적으로 측정하는 방법을 제공한다.

<39> 본 발명에 따른 단계 1은 실리콘 기판 위에 광감응물질을 증착하고 상기 광감응물질 위에 유기물 박막이 코팅된 광감응물질 시편과 실리콘 기판 위에 피산화제 박막이 증착된 피산화제 박막 시편을 준비하는 단계이다.

<40> 상기 광감응물질은 빛에 노출되었을 때 활성산소를 방출하는 물질로, 상기 광감응물질로는 다공성 실리콘(PSi), 탄소나노튜브(CNT), 금(Au), 산화아연(ZnO), 이산화티탄(TiO₂) 등이 사용될 수 있다.

<41> 상기 유기물 박막은 인체에 적용되었을 때의 체세포를 대신하여 사용되는 것으로, 바셀린 등을 사용할 수 있다.

<43> 상기 피산화제 박막은 철(Fe), 구리(Cu) 등의 금속박막을 사용할 수 있는데, 철 박막이 보다 바람직하다. 상기 금속박막은 광감응물질로부터 발생된 활성산소에 의해 산화되는 유일한 물질로, 상기 피산화제 박막이 단일산소(¹O₂), O₂⁻ 및 ·OH 등의 ROS에 노출되면 산화되어 그 표면에 산화막 층을 형성하게 된다. 예를 들어, 철 박막인 경우 산화철인 FeO, Fe₂O₃, Fe₃O₄ 등으로 구성된 산화피막 층이 그 표면에 형성된다.

- <44> 본 발명에 따른 광감응물질 시편은 2.5 cm × 2.5 cm × 0.05 cm의 P형 Si(100) 조각 위에 광감응물질을 증착하고, 상기 증착이 완료된 광감응물질 시편 표면에 바셀린을 코팅하여 얻을 수 있다.
- <45> 본 발명에 따른 피산화제 박막 시편은 먼저 상기 박막을 r.f.마그네트론 스퍼터링법을 이용하여 1 μm의 두께로 제작하고, 제작한 박막을 2.5 cm × 2.5 cm × 0.05 cm의 P형 Si(100) 조각 위에 증착하여 얻을 수 있다. 이때, 상기 박막이 발생된 ROS에 의해 산화되는 유일한 물질이 되기 위해서는, 박막 표면에 존재하는 이미 형성되어 있는 자연산화막이 완전히 제거되어야 한다. 상기 자연산화막의 제거는 묽은 HF 용액(탈이온수 : HF = 50 : 1, v/v)을 이용한 식각과정으로 이루어지는데, 상기 HF 용액에 5분간 담구어 표면의 자연산화막을 제거할 수 있다.
- <46> 본 발명에 따른 단계 2는 상기 단계 1에서 얻은 두 시편을 하나의 팩에 진공포장시키는 단계이다.
- <47> 상기 단계 1에서 제조된 광감응물질 시편과 피산화제 박막 시편을 함께 플라스틱 팩에 넣고 내부공기를 뽑아 완전한 진공상태로 만들어 진공포장된 팩을 제조하는 것이 바람직하다(도 1 참조). 이때, 상기 진공포장은 팩 내부의 공기에 의해 피산화제 박막이 산화되는 것을 막기 위한 것이다.
- <48> 본 발명에 따른 단계 3은 단계 1의 광감응물질과는 다른 종류의 광감응물질이 증착된 광감응물질 시편과 단계 1의 피산화제 박막 시편을 준비하여 이들 두 시편을 별도의 팩에 진공 포장시키는 단계이다.
- <49> 상기 별도의 팩을 제조하는 방법은 상기 단계 2에서 언급한 바와 같다.
- <50> 본 발명에 따른 단계 4는 단계 2 및 3의 진공 팩에 800~1000 nm의 근적외선을 조사하여 활성산소를 발생시키는 단계이다.
- <51> 이때, 상기 빛은 광감응물질로부터 암세포 파괴에 필요한 충분한 열을 방출시키기 위한 것으로, 800 내지 1000 nm 파장 범위의 근적외선이 바람직하다. 상기 근적외선의 빛을 상기 각각의 두 광감응물질 시편에 조사하면 열이 방출됨과 동시에 ROS도 함께 발생하게 된다.
- <52> 본 발명에 따른 단계 5는 상기 상이한 광감응물질 시편으로부터 발생된 활성산소에 의해 산화된 각각의 피산화제 박막 시편에 대해 X선 회절 분석을 수행하는 단계이다.
- <53> 상기 단계 4에서 광감응물질에서 발생한 ROS에 의해 피산화제 박막이 산화되어 그 표면에 산화막(예를 들어, 철 박막의 경우 FeO, Fe₂O₃, Fe₃O₄ 등의 산화막)을 형성하게 된다.
- <54> 이때, 상기 산화막의 두께로부터 X선 회절 분석을 이용하여 피산화제 박막의 산화된 정도를 확인할 수 있다. 상기 ROS 방출량은 피산화제 박막이 산화되는 정도에 의해 결정될 수 있다.
- <55> 상기 활성산소 방출량은 상이한 광감응물질로부터 발생하는 활성산소에 의해 산화되는 정도가 다른 각각의 피산화제 박막 층의 두께 차이로부터 X선 회절 강도의 차이에 의해 결정되는 것이다.
- <56> 상기 각각의 피산화제 박막 층의 두께비는 X선 회절 분석을 이용한 하기와 같은 계산 과정을 통하여 이루어진다.
- <57> 상기 피산화제가 철(Fe)인 경우, 상기 피산화제 박막 층의 두께비는 다음과 같다.

수학식 7

$$\frac{I_{Fe_2O_3(CNT)(104)} I_{Si(PSi)(400)}}{I_{Fe_2O_3(PSi)(104)} I_{Si(CNT)(400)}} = \frac{t_{Fe_xO_y(CNT)}}{t_{Fe_xO_y(PSi)}} \quad \text{또는}$$

<58>

수학식 8

$$\frac{I_{Fe_3O_4(CNT)(440)} I_{Si(PSi)(400)}}{I_{Fe_3O_4(PSi)(440)} I_{Si(CNT)(400)}} = \frac{t_{Fe_xO_y(CNT)}}{t_{Fe_xO_y(PSi)}} \quad \text{으로부터 측정될 수 있으며, 바람직하게는, 두 값의 평균값으로부터 측정될 수 있다.}$$

<59>

<60> 상기 식에서,

<61> $I_{Fe_2O_3(CNT)(104)}$ 는 CNT가 증착된 Si(100) 시편과 철 박막이 증착된 Si(100) 시편으로 구성된 진공 팩으로부터 꺼낸 Fe_3O_4 층이 형성된 철 박막이 증착된 Si(100) 시편의 $Fe_2O_3(104)$ 회절에 대한 회절 강도를 나타내고,

<62> $I_{Fe_2O_3(PSi)(104)}$ 는 PSi가 증착된 Si(100) 시편과 철 박막이 증착된 Si(100) 시편으로 구성된 진공 팩으로부터 꺼낸 Fe_3O_4 층이 형성된 철 박막이 증착된 Si(100) 시편의 $Fe_2O_3(104)$ 회절에 대한 회절 강도를 나타내고,

<63> $I_{Fe_3O_4(CNT)(440)}$ 은 CNT가 증착된 Si(100) 시편과 철 박막이 증착된 Si(100) 시편으로 구성된 진공 팩으로부터 꺼낸 Fe_3O_4 층이 형성된 철 박막이 증착된 Si(100) 시편의 $Fe_3O_4(440)$ 회절에 대한 회절 강도를 나타내고,

<64> $I_{Fe_3O_4(PSi)(440)}$ 은 PSi가 증착된 Si(100) 시편과 철 박막이 증착된 Si(100) 시편으로 구성된 진공 팩으로부터 꺼낸 Fe_3O_4 층이 형성된 철 박막이 증착된 Si(100) 시편의 $Fe_3O_4(440)$ 회절에 대한 회절 강도를 나타내고,

<65> $I_{Si(PSi)(400)}$ 과 $I_{Si(CNT)(400)}$ 은 다공성 Si 시편에서의 기관 Si에 대한 (400) 회절 강도와 CNT 시편에서의 기관 Si에 대한 (400) 회절 강도를 나타내고,

<66> $t_{Fe_xO_y(CNT)}$ 는 CNT로부터 발생되는 활성산소에 의해 철 박막에 형성된 산화막의 두께를 나타내며,

<67> $t_{Fe_xO_y(PSi)}$ 는 PSi로부터 발생되는 활성산소에 의해 철 박막에 형성된 산화막의 두께를 나타낸다.

<68> 철 박막이 증착된 Si 시편인 Fe/Si(100) 시편의 경우, 근적외선이 조사되면 Fe 층의 윗부분이 Fe_2O_3 와 Fe_3O_4 로 이미 변하였으므로 $Fe_xO_y/Fe/Si(100)$ 로 나타낼 수 있다. $Fe_xO_y/Fe/Si(100)$ 시편 내의 Fe_xO_y , Fe 및 Si 기관의 단면적은 모두 같으므로, 부피 분율은 두께 분율로 대체할 수 있다. 즉, 수학식 6의 C_i 대신 t_i/t_T 를 쓰면, $Fe_xO_y/Fe/Si(100)$ 시편의 Fe_xO_y 와 Si(400) 회절에 대한 하기 수학식 9는 다음과 같다.

수학식 9

<69>
$$I_{Fe_xO_y} = \frac{KR_{Fe_xO_y} t_{Fe_xO_y}}{2\mu_T t_T}$$

수학식 10

<70>
$$I_{Si(400)} = \frac{KR_{Si(400)} t_{Si}}{2\mu_T t_T}$$

<71> 상기 수학식 9 및 10에서 t 는 시편의 두께, μ 는 흡수계수 및 첨자 T 는 $Fe_xO_y/Fe/Si(100)$ 시편 전체를 나타낸다. 상기 수학식 9를 수학식 10으로 나누면 하기 수학식 11이 된다.

수학식 11

<72>
$$\frac{I_{Fe_xO_y}}{I_{Si(400)}} = \frac{R_{Fe_xO_y} t_{Fe_xO_y}}{R_{Si(400)} t_{Si}}$$

<73> 상기 수학식 11에서, 근적외선이 조사된 다공성 실리콘이 증착된 Si 시편인 PSi/Si(100) 및 철 박막이 증착된 Si 시편인 Fe/Si(100) 시편으로 구성된 진공 팩으로부터 꺼낸 Fe/Si(100) 시편을 Fe(PSi)로, 탄소나노튜브가 증착된 Si 시편인 CNT/Si(100) 및 철 박막이 증착된 Si 시편인 Fe/Si(100) 시편으로 구성된 진공 팩으로부터 꺼낸 Fe/Si(100) 시편을 Fe(CNT)로, 또 Fe(CNT)와 Fe(PSi) 시편 상에 형성된 Fe_xO_y 층을 각각 첨자 $Fe_xO_y(CNT)$ 와 $Fe_xO_y(PSi)$ 로 나타내면, 각각의 회절에 관한 식을 다음과 같이 쓸 수 있다.

수학식 12

$$\frac{I_{Fe_xO_y(CNT)}}{I_{Si(400)}} = \frac{R_{Fe_xO_y} t_{Fe_xO_y(CNT)}}{R_{Si(400)} t_{Si}}$$

수학식 13

$$\frac{I_{Fe_xO_y(PSi)}}{I_{Si(400)}} = \frac{R_{Fe_xO_y} t_{Fe_xO_y(PSi)}}{R_{Si(400)} t_{Si}}$$

Fe_xO_y/Fe/Si(100) 시편의 경우, 본 발명에서 사용된 재료(Fe_xO_y와 Si), Fe_xO_y층의 결정학적 방위 및 Si 기판의 두께가 모두 고정되어 있으므로, $R_{Fe_xO_y}$, $R_{Si(400)}$ 및 t_{Si} 는 항상 상수이다. 따라서 상기 수학식 12를 수학식 11로 나누면 하기 수학식 14가 얻어진다.

수학식 14

$$\frac{I_{Fe_xO_y(CNT)} I_{Si(PSi)(400)}}{I_{Fe_xO_y(PSi)} I_{Si(CNT)(400)}} = \frac{t_{Fe_xO_y(CNT)}}{t_{Fe_xO_y(PSi)}}$$

Fe_xO_y 층은 Fe₂O₃ 와 Fe₃O₄ 상으로 이루어져 있고 Fe_xO_y 층의 주된 회절선은 Fe₂O₃(104)와 Fe₃O₄(440) 회절이며, Fe₂O₃(104) 회절에 대해서 표현하면 상기 수학식 7과 같이 쓸 수 있고,

Fe₃O₄(440) 회절에 대해서 표현하면 상기 수학식 8과 같이 쓸 수 있다.

산화철(Fe_xO_y) 층내에 존재하는 Fe₃O₄ 상에 대한 Fe₂O₃ 상의 비율이 항상 일정하다는 가정 하에서 수학식 7과 8로부터 $t_{Fe_xO_y(CNT)} / t_{Fe_xO_y(PSi)}$ 의 값을 구할 수 있다.

본 발명에 따른 실시예 1로부터 얻은 XRD 결과(표 1 참조)를 상기 유도된 수학식 14에 대입하여, PSi의 경우에서 CNT보다 약 1/3배 두께의 산화막이 형성되고, 이 결과로부터 PSi의 경우가 Fe를 산화시킬 수 있는 물질, 즉 활성산소가 더 적게 발생됨이 확인되었다.

따라서, X선 회절 분석을 이용하여 활성산소의 정량적 측정이 가능함을 알 수 있다.

이하, 본 발명을 실시예 및 첨부된 도면을 참조하여 보다 상세하게 설명한다. 단, 하기 실시예 및 도면들은 본 발명의 이해를 돕기 위해 제공되는 것으로 본 발명의 내용이 하기 도면의 일 실시예에 의해 제한되거나 한정되지 않음은 물론이다.

<실시예 1> NIR 조사시 PSi 및 CNT에 의하여 생성된 ROS의 양 측정

단계 1. PSi/Si(100) 및 Fe/Si(100) 시편의 제조

1. PSi의 제조

양극산화에 앞서 실리콘 웨이퍼를 아세트론:메탄올(3 : 1, v/v) 혼합용액에 10분간 담군 후, 탈이온수로 충분히 헹군 다음 질소가스 하에서 건조시켜 실리콘 기판상의 자연산화막을 제거한다. 자연산화막을 제거한 실리콘 웨이퍼를 이용하여 95% 에탄올로 희석시킨 46%의 HF 용액(에탄올 : HF = 1 : 1, v/v) 혼합용액을 포함한 전해질 내에서 전기화학적 반응(양극산화)을 통하여 다공성 실리콘(PSi)을 제조하였다. 이때 사용한 전류밀도는 50 mA/cm², 에칭시간은 10분으로 하였으며 에칭 공정 중에 조명은 별도로 사용하지 않았다. 이 공정을 통하여 기공율이 73%, 다공성 Si 층 두께가 55 μm인 PSi를 얻었다.

2. PSi/Si(100) 시편의 제조

상기 과정 1에서 제조한 PSi를 2.5 cm × 2.5 cm × 0.05 cm의 P형 Si(100) 조각 위에 증착하였다. PSi가 증착된 Si 시편 표면에 체세포 대용으로 바셀린을 사용하여 유기물 박막을 코팅하여 PSi/Si(100) 시편을 얻었다.

- <90> 3. 철 박막 시편(Fe/Si(100) 시편)의 제조
- <91> ROS를 감지하는 데 사용될 Fe 박막을 r.f. 마그네트론 스퍼터링법으로 제작하였다. 1 μm 두께의 Fe 박막을 2.5 cm $\times$ 2.5 cm $\times$ 0.05 cm의 P형 Si(100) 조각 위에 증착하였다. 이어서 진공포장에 앞서 Fe가 증착된 Si 시편을 묶은 HF 용액(탈이온수 : HCl = 50 : 1)에 5분간 담궈 Fe 표면의 자연산화막을 제거하여 X선 회절 분석용의 Fe/Si(100) 시편을 얻었다.
- <92> **단계 2. PSi/Si(100) 및 Fe/Si(100) 시편의 진공포장**
- <93> 도 1에 나타난 바와 같이, 상기 과정 2에서 얻은 PSi/Si(100) 시편 및 과정 3에서 얻은 Fe/Si(100) 시편을 함께 진공포장하여 진공 플라스틱 팩을 만들었다.
- <94> **단계 3. CNT/Si(100) 및 Fe/Si(100) 시편의 제조**
- <95> 1. CNT/Si(100) 시편의 제조
- <96> 일진 나노텍사에서 구입한 CNT(상품명: ASP-100F, 직경이 1~1.2 nm, 길이가 5~20 μm 인 와이어 형태의 SWCNT)를 2.5 cm $\times$ 2.5 cm $\times$ 0.05 cm의 P형 Si(100) 조각 위에 증착하였다. CNT가 증착된 Si 시편 표면에 체세포 대용으로 바셀린을 사용하여 유기물 박막을 코팅하여 CNT/Si(100) 시편을 얻었다.
- <97> 2. 철 박막 시편(Fe/Si(100) 시편)의 제조
- <98> ROS를 감지하는 데 사용될 Fe 박막을 r.f. 마그네트론 스퍼터링법으로 제작하였다. 1 μm 두께의 Fe 박막을 2.5 cm $\times$ 2.5 cm $\times$ 0.05 cm의 P형 Si(100) 조각 위에 증착하였다. 이어서 진공포장에 앞서 Fe가 증착된 Si 시편을 묶은 HF 용액(탈이온수 : HCl = 50 : 1)에 5분간 담궈 Fe 표면의 자연산화막을 제거하여 X선 회절 분석용의 Fe/Si(100) 시편을 얻었다.
- <99> 3. CNT/Si(100) 및 Fe/Si(100) 시편을 진공포장
- <100> 도 1에 나타난 바와 같이, 상기 과정 2에서 얻은 CNT/Si(100) 시편 및 과정 3에서 얻은 Fe/Si(100) 시편을 함께 진공포장하여 또 다른 진공 플라스틱 팩을 만들었다.
- <101> **단계 4. 근적외선 조사**
- <102> 조사강도 3.5 W/cm²인 하나의 근적외선 조사장치를 사용하여 상기 단계 2 및 단계 3에서 얻은 두 개의 다른 진공 플라스틱 팩을 20분간 동시에 조사하였다.
- <103> **단계 5. X선 회절 분석**
- <104> 상기 단계 4에서 근적외선을 조사한 두 개의 진공 플라스틱 팩으로부터 꺼낸 두 Fe/Si(100) 시편에 대하여, Cu-K α 특성곡선을 사용하여 X선 회절분석(X-ray diffraction; XRD -박막형 고니오미터가 부착된 필립스 X'pert 회절기 이용)을 실시하였다. X선 회절 분석은 근적외선 조사시 생성된 ROS에 의하여 Fe 막이 산화된 정도를 알아내는 데 사용된다. 상기 측정 결과를 도 2에 나타내었다. 또한, 상기의 X선 회절 분석으로부터 얻은 Fe₂O₃의 (104) 및 Fe₃O₄의 (440) 회절 선에 대한 강도 비의 계산 결과를 표 1에 나타내었다. 재현성 확인을 위한 반복 실험의 결과를 함께 나타내었다.
- <105> **표 1**
- | 반복횟수 | $\frac{I_{Fe_2O_3(CNT)(104)} I_{Si(PSi)(400)}}{I_{Fe_2O_3(PSi)(104)} I_{Si(CNT)(400)}}$ | $\frac{I_{Fe_2O_3(CNT)(440)} I_{Si(PSi)(400)}}{I_{Fe_2O_3(PSi)(440)} I_{Si(CNT)(400)}}$ |
|------|---|---|
| 1 | 3.5 | 3.3 |
| 2 | 2.5 | 2.6 |
| 3 | 2.8 | 2.5 |
| 평균 | 2.9 $\pm$ 0.6 | 2.8 $\pm$ 0.5 |
- <106> 도 2에 나타난 바와 같이, Fe(Si) 시편의 Fe₂O₃의 (104) 및 Fe₃O₄의 (440) 회절 강도 피크는 Fe(CNT) 시편의 해당 회절 강도 피크보다 훨씬 더 낮게 나타났다.
- <107> 구체적인 수치로, 표 1에 나타난 바와 같이, Fe₂O₃의 (104) 및 Fe₃O₄의 (440) 회절 선에 대한 평균 피크 강도 비

는 각각 2.9 ± 0.6 과 2.8 ± 0.5 로, 이 강도 비는 상기 유도된 수학적 식 7 및 8을 통하여 시편의 Fe의 산화막 (Fe_2O_3 및 Fe_3O_4)의 두께로 표현될 수 있음을 알 수 있다. 따라서, PSi의 경우에서 CNT보다 약 1/3배 두께의 산화막이 형성되었고, 이 결과로부터 PSi의 경우 Fe를 산화시킬 수 있는 물질, 즉 활성산소가 더 적게 발생된 결과라는 것을 확인할 수 있다.

<108>

발명의 효과

<109>

이상에서 살펴본 바와 같이, 본 발명에 의하면, 광감응물질 시편과 실리콘 기판 위에 철 박막을 스퍼터 증착하여 만든 철 박막 시편을 함께 넣고 진공포장하여 광을 조사한 다음, 철 박막 시편을 꺼내어 X선 회절 분석할 때 실리콘 피크에 대한 Fe_2O_3 및 Fe_3O_4 의 회절 선의 강도 비 값에 의하여 철 박막의 두께를 구할 수 있으며, 이것으로부터 광감응물질에 의하여 발생한 활성산소의 양을 구할 수 있다. 따라서, 본 발명은 신뢰성 있고 재현성 있는 활성산소 발생량의 측정기술을 제공할 것으로 기대된다.

도면의 간단한 설명

<1>

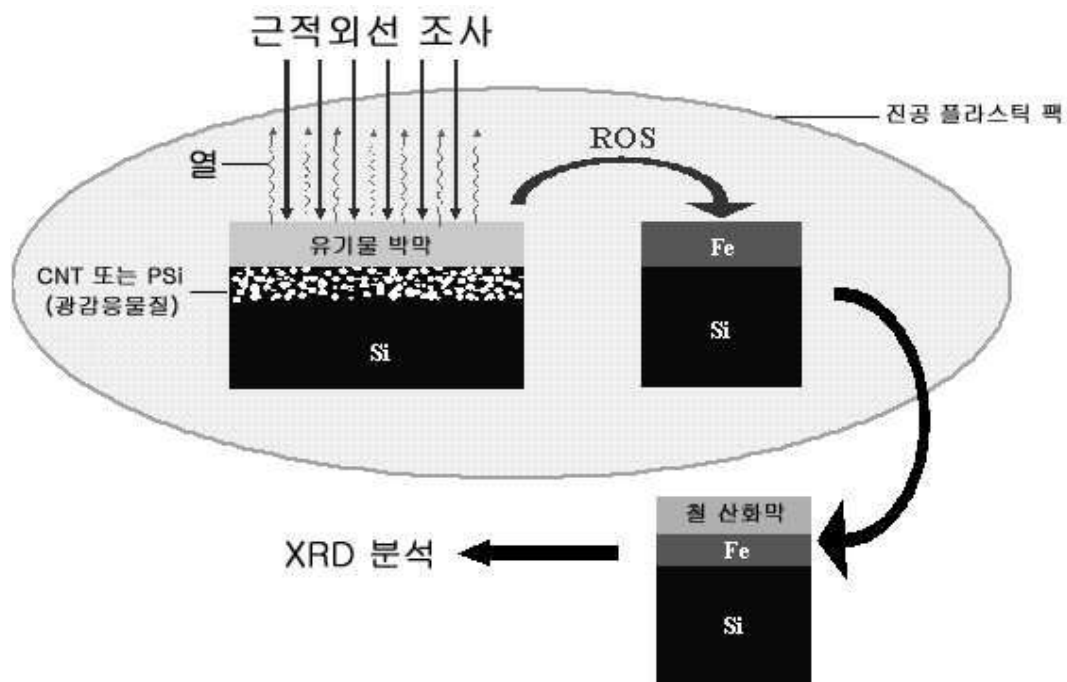
도 1은 본 발명의 일 실시예에 따른 NIR 빛에 노출되는 동안의 PSi 또는 CNT에 의해 생성된 활성산소의 양을 측정하기 위해 제작한 진공 플라스틱 팩의 모형을 나타내고,

<2>

도 2는 본 발명의 일 실시예에 따른 NIR에 노출된 Fe(PSi), Fe(CNT) 및 Fe 시편의 X선 회절(X-ray diffraction; XRD) 분석 결과를 나타낸다.

도면

도면1



도면2

