



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2016년10월07일
(11) 등록번호 10-1663910
(24) 등록일자 2016년09월30일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
G01N 5/02 (2006.01) G01G 3/16 (2006.01)
G01N 1/38 (2006.01) G01N 33/18 (2006.01)
B82Y 30/00 (2011.01) B82Y 35/00 (2011.01)
(52) CPC특허분류
G01N 5/02 (2013.01)
G01G 3/16 (2013.01)
(21) 출원번호 10-2015-0123664
(22) 출원일자 2015년09월01일
심사청구일자 2015년09월01일
(56) 선행기술조사문헌
JP2008511008 A
KR100748408 B1
JP2007528692 A
KR101093225 B1

(73) 특허권자
고려대학교 산학협력단
서울특별시 성북구 안암로 145, 고려대학교 (안암동5가)
(72) 발명자
나성수
서울특별시 영등포구 당산로42길 13 106동 802호
(당산동5가, 당산동1차 효성아파트)
유준석
부산광역시 연제구 월드컵대로 325, 101호 1205호(거제동, 거제삼정그린코아)
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
정은열

전체 청구항 수 : 총 9 항

심사관 : 최중운

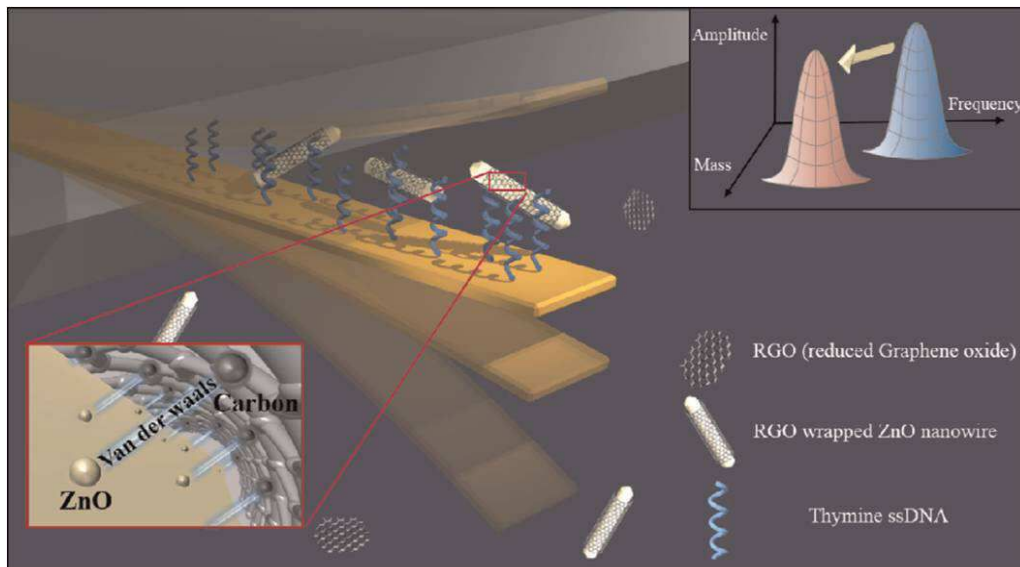
(54) 발명의 명칭 산화아연 나노와이어 검출용 센서 및 이를 이용한 수계 중 산화아연 나노와이어 검출방법

(57) 요약

본 발명은 수계 중에서 산화아연 나노와이어를 높은 선택성 및 고감도로 검출할 수 있는 산화아연 나노와이어 검출용 센서 및 이를 이용하여 수계 중에서 산화아연 나노와이어를 검출하는 방법에 관한 것이다.

본 발명에 따르면, 수계 중에서 산화아연 나노와이어를 높은 선택성 및 고감도로 검출할 수 있으며, 따라서 산화아연 나노와이어가 환경 및 인체에 미치는 독성을 분석할 수 있는 우수한 수단을 제공할 수 있다.

대표도 - 도1



(52) CPC특허분류

G01N 1/38 (2013.01)
G01N 33/18 (2013.01)
B82Y 30/00 (2013.01)
B82Y 35/00 (2013.01)

장규환

서울특별시 성동구 독서당로 191 2동 203호(옥수동, 옥수동극동아파트)

(72) 발명자

박진성

서울특별시 노원구 공릉로42길 69 401호 A(공릉동, 향운 하우스)

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2014034988
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 원천기술개발사업
연구과제명 1차원 나노물질의 환경매체내 거동 및 독성 모니터링기술 개발
기 여 율 30/100
주관기관 고려대학교 산학협력단
연구기간 2014.06.30 ~ 2015.06.29

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2014052389
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 (이공)중견연구자지원_도약연구
연구과제명 극저농도 실시간 나노독성물질 검출센서 개발
기 여 율 30/100
주관기관 고려대학교 산학협력단
연구기간 2014.11.01 ~ 2015.10.31

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2014001864
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 (이공)선도연구센터육성사업(이공학분야)
연구과제명 [3-2]인체-제품 적응성 평가 기술
기 여 율 20/100
주관기관 고려대학교 산학협력단
연구기간 2014.03.01 ~ 2015.02.28

이 발명을 지원한 국가연구개발사업

과제고유번호 2014062690
부처명 미래창조과학부
연구관리전문기관 한국연구재단
연구사업명 (이공)일반연구자-신진
연구과제명 [2차년도] 질병유발 환경 나노 독성 물질의 고감도 검출 기법 개발
기 여 율 20/100
주관기관 고려대학교 산학협력단
연구기간 2014.11.01 ~ 2015.10.31

공지예외적용 : 있음

명세서

청구범위

청구항 1

수계 중 산화아연 나노와이어와 결합하는 탄소체;

상기 탄소체와 선택적으로 결합할 수 있는 단일가닥 DNA(ssDNA);

표면에 상기 단일가닥 DNA가 고정되며, 상기 탄소체와 단일가닥 DNA의 결합에 의해 질량이 증가함에 따라 공진 주파수 이동 현상을 나타내는 마이크로 공진기;를 포함하는 수계 중 산화아연 나노와이어 검출용 센서.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 탄소체는 환원된 그래핀 옥사이드, 그래핀 옥사이드, 탄소나노튜브로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 수계 중 산화아연 나노와이어 검출용 센서.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 단일가닥 DNA는 복수의 티민기(thymine)를 포함하는 것을 특징으로 하는 수계 중 산화아연 나노와이어 검출용 센서.

청구항 4

제3항에 있어서,

상기 단일가닥 DNA는 5'-(TTT) n -3' ($1 \leq n \leq 20$)인 것을 특징으로 하는 수계 중 산화아연 나노와이어 검출용 센서.

청구항 5

(a) 산화아연 나노와이어를 포함하는 액상 시료에 산화아연 나노와이어와 결합하는 탄소체를 첨가하여 산화아연 나노와이어의 표면을 탄소체로 코팅하는 단계;

(b) 마이크로 공진기의 표면 상에 상기 탄소체와 선택적으로 결합할 수 있는 단일가닥 DNA(ssDNA)를 고정하는 단계;

(c) 상기 마이크로 공진기의 표면을 상기 액상 시료에 담그어 상기 탄소체와 상기 단일가닥 DNA의 선택적 결합을 유도하는 단계; 및

(d) 상기 선택적 결합으로 인한 질량 증가에 따른 상기 마이크로 공진기의 공진 주파수 이동현상을 분석하는 단계;를 포함하는 수계 중 산화아연 나노와이어의 검출방법.

청구항 6

제5항에 있어서,

상기 탄소체는 환원된 그래핀 옥사이드, 그래핀 옥사이드, 탄소나노튜브로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상인 것을 특징으로 하는 수계 중 산화아연 나노와이어의 검출방법.

청구항 7

제5항에 있어서,

상기 단일가닥 DNA는 복수의 티민기(thymine)를 포함하는 것을 특징으로 하는 수계 중 산화아연 나노와이어의 검출방법.

청구항 8

제5항에 있어서,

상기 단일가닥 DNA는 5'-(TTT)_n-3'(1≤n≤20)인 것을 특징으로 하는 수계 중 산화아연 나노와이어의 검출방법.

청구항 9

제5항에 있어서,

상기 공진 주파수 이동(ω_{nrf})은 하기 식으로 표시되는 것을 특징으로 하는 수계 중 산화아연 나노와이어의 검출 방법:

$$\omega_{nrf} = \delta \omega \times 100 / \omega_0$$

상기 식에서, ω_0 는 상기 단일가닥 DNA를 마이크로 공진기의 표면 상에 고정화시킨 후 측정되는 공진 주파수이고, $\delta \omega$ 는 상기 탄소체와 상기 단일가닥 DNA의 선택적 결합 이후에 측정되는 공진 주파수와 상기 ω_0 의 차이이다.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 본 발명은 수계 중에서 산화아연 나노와이어를 높은 선택성 및 고감도로 검출할 수 있는 산화아연 나노와이어 검출용 센서 및 이를 이용하여 수계 중에서 산화아연 나노와이어를 검출하는 방법에 관한 것이다.

배경 기술

[0002] 최근엔, 나노물질은 그들의 벌크 위상의 전형적인 특성과는 다른 물리적, 화학적, 광학적, 전기적 특성으로 인해 큰 관심을 받고 있다(Moezzi et al., 2012). 따라서 이러한 나노물질의 사용은 연구 목적으로부터 상업적 목적에 이르기까지 급격한 성장을 이룬 바 있으며, 태양광 스크린, 테니스 라켓, 고체 윤활제 및 세제에 이르기까지 다양한 상업적 제품들의 성능을 향상시키기 위해서 나노물질들이 사용되고 있다. 이러한 나노물질들 중에서도 산화아연 나노와이어(zinc oxide nanowire; ZnO NWs)는 독특한 압전(piezoelectric), 반도체(semiconducting) 성질 (Chen et al., 2011; Hempen and Karst, 2006; Huang et al., 2006; Nasr et al., 2013; Riaz et al., 2011; Wang et al., 2008; Williams and Kamat, 2009)로 인해 큰 관심을 받고 있으며, 압전 소자, 에너지 하베스팅 장치, 자가 동력 나노센서, 바이오메디컬 장치 등 다양한 분야에서 응용되고 있다(Agrawal and Espinosa, 2011; Lin et al., 2012; Rasmussen et al., 2010; Wang and Song, 2006).

[0003] 산화아연 나노와이어를 산업적, 상업적 제품에 사용하기 위해서는, 그것이 인체 및 환경에 미치는 독성이 먼저 분석되어야 한다. 이에, 최근에는 산화아연의 독성에 대한 연구들이 보고되고 있으며(Nel et al., 2006), 경제 협력개발기구(Organization for Economic Cooperation and Development, OECD)에서는 산화아연 나노와이어를 독성 물질로 선언한바 있어, 이들의 잠재적인 독성이 우려되고 있다.

[0004] 구체적으로, 산화아연 나노와이어의 크기가 나소스케일로 감소함에 따라, 단위 부피당 표면적이 광범위하게 증가하게 되고, 유기체에서 반응산소종(reactive oxygen species (ROS))을 빠르게 생성하는 화학 반응을 유발하게 된다(George et al., 2009). 결국, ROS의 급속한 생산은 미토콘드리아, 세포막, 핵 DNA의 손상을 유발하게 되며, 효소의 기능장애(malfunction) 또는 세포의 죽음을 초래한다. (Ryter et al., 2007). 또한, 산화아연 나노와이어가 세포 내로 들어가면, 약산성 환경으로 인한 아연 이온(Zn^{2+})이온이 생성되는 분해 과정이 일어나며, 생성된 아연 이온은 아연 이온은 잠재적으로 세포에 유해한 독성 현상을 초래할 수 있다. 인간 단핵구 대식세포에 대한 산화아연 나노와이어의 임계 농도는 약산성 환경에서 10 μ g/mL 이하로 보고되었으며(Muller et al., 2010), 일반적으로 중성 용액에서 25 μ g/mL 농도의 산화아연은 유효 독성으로 간주된다(George et al., 2009; Xia et al., 2008).

[0005] 앞서 살펴본 바와 같이, 산화아연 나노와이어 기반의 응용 분야의 발달로 인해 인체 노출이 증가하게 되며, 이는 인간의 건강에 잠재적인 위험 요인으로 작용할 것이다. 산화아연 나노와이어의 매우 작은 크기로 인하여, 산화아연 나노와이어는 산업 폐수 형태로 수계에 배출되는 양이 증가할 것으로 예상되며, 따라서 산화아연 나노와

이어는 환경에 노출되어 먹이 사슬을 따라 인체에 상당량 축적되어 인체의 건강에 악영향을 미칠 것으로 예상되는바, 산화아연 나노와이어의 농도를 모니터링할 필요성이 증가하고 있다.

- [0006] 종래, 수계 중에서 독성 나노물질들의 검출을 위한 다양한 방법들이 제안된 바 있는데, 예를 들어, 원자 흡수 스펙트로스코피(M. Ghaedi, F. Ahmadi and A. Shokrollahi, J. Hazard. Mater., 2007, 142, 272-278), 형광분 석 기반의 광학적 방법들(Y. Wen, F. Xing, S. He, S. Song, L. Wang, Y. Long, D. Li and C. Fan, Chem. Commun., 2010, 46, 2596-2598), 표면 플라즈몬 공진(T. Kang, S. Hong, J. Moon, S. Oh and J. Yi, Chem. Commun., 2005, 3721-3723), 표면-강화 라만 산란법 (J. Yin, T. Wu, J. Song, Q. Zhang, S. Liu, R. Xu and H. Duan, Chem. Mater., 2011, 23, 4756-4764), 전기화학적 방법들(Z. Lin, X. Li and H.B. Kraatz, Anal. Chem., 2011, 83, 6896-6901) 및 공진기를 사용한 방법 (J. Park, W. Choi, K. Jang and S. Na, Biosens. Bioelectron., 2013, 41, 471-476)을 들 수 있다. 그러나, 상기 방법들을 사용하여 많은 나노물질들이 선택적으로 검출되었지만, 산화아연 나노와이어를 수계 중에서 선택적으로 검출하기 위한 방법에 대해서는 아직까지 보고된 바 없다.

발명의 내용

해결하려는 과제

- [0007] 본 발명은 상술한 문제점을 해결하기 위해 안출된 것으로, 본 발명에서는 산화아연 나노와이어를 높은 선택성 및 고감도로 검출할 수 있는 산화아연 나노와이어 검출용 센서 및 이를 이용하여 수계 중에서 산화아연 나노와이어를 검출하는 방법을 제공하고자 한다.

과제의 해결 수단

- [0008] 본 발명은 상기 과제를 해결하기 위하여, 수계 중 산화아연 나노와이어와 결합하는 탄소체; 상기 탄소체와 선택적으로 결합할 수 있는 단일가닥 DNA(ssDNA); 표면에 상기 단일가닥 DNA가 고정되며, 상기 탄소체와 단일가닥 DNA의 결합에 의해 질량이 증가함에 따라 공진 주파수 이동 현상을 나타내는 마이크로 공진기;를 포함하는 수계 중 산화아연 나노와이어 검출용 센서를 제공한다.
- [0009] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 탄소체는 환원된 그래핀 옥사이드, 그래핀 옥사이드, 탄소나노튜브로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.
- [0010] 본 발명의 다른 일 실시예에 의하면, 상기 단일가닥 DNA는 복수의 티민기(thymine)를 포함할 수 있다. 이때, 상기 단일가닥 DNA는 5'-(TTT)n-3'(1≤n≤20)일 수 있다.
- [0011] 또한, 본 발명은 상기 과제를 해결하기 위하여, (a) 산화아연 나노와이어를 포함하는 액상 시료에 산화아연 나노와이어와 결합하는 탄소체를 첨가하여 산화아연 나노와이어의 표면을 탄소체로 코팅하는 단계; (b) 마이크로 공진기의 표면 상에 상기 탄소체와 선택적으로 결합할 수 있는 단일가닥 DNA(ssDNA)를 고정하는 단계; (c) 상기 마이크로 공진기의 표면을 상기 액상 시료에 담그어 상기 탄소체와 상기 단일가닥 DNA의 선택적 결합을 유도하는 단계; 및 (d) 상기 선택적 결합으로 인한 질량 증가에 따른 상기 마이크로 공진기의 공진 주파수 이동현상을 분석하는 단계;를 포함하는 수계 중 산화아연 나노와이어의 검출방법을 제공한다.
- [0012] 본 발명의 일 실시예에 의하면, 상기 탄소체는 환원된 그래핀 옥사이드, 그래핀 옥사이드, 탄소나노튜브로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상일 수 있다.
- [0013] 본 발명의 다른 일 실시예에 의하면, 상기 단일가닥 DNA는 복수의 티민기(thymine)를 포함할 수 있다. 이때, 상기 단일가닥 DNA는 5'-(TTT)n-3'(1≤n≤20)일 수 있다.
- [0014] 본 발명의 또 다른 일 실시예에 의하면, 상기 공진 주파수 이동(ω_{nfs})은 하기 식으로 표시될 수 있다:
- [0015]
$$\omega_{nfs} = \delta \omega \times 100 / \omega_0$$
- [0016] 상기 식에서, ω_0 는 상기 단일가닥 DNA를 마이크로 공진기의 표면 상에 고정화시킨 후 측정되는 공진 주파수이고, $\delta \omega$ 는 상기 탄소체와 상기 단일가닥 DNA의 선택적 결합 이후에 측정되는 공진 주파수와 상기 ω_0 의 차이이다.

발명의 효과

[0017] 본 발명에 따르면, 수계 중에서 산화아연 나노와이어를 높은 선택성 및 고감도로 검출할 수 있으며, 따라서 산화아연 나노와이어가 환경 및 인체에 미치는 독성을 분석할 수 있는 우수한 수단을 제공할 수 있다.

도면의 간단한 설명

[0018] 도 1은 본 발명에 따른 센서의 구조 및 이를 이용하여 수계 중 산화아연 나노와이어를 검출하는 개략적인 개념을 도시한 도면으로서, 마이크로 공진기의 표면에 고정된 단일가닥 DNA(ssDNA)와 산화아연 나노와이어가 결합된 환원된 그래핀 옥사이드(RGO-ZnONWs)의 상호작용에 의해 발생하는 공진 주파수의 이동 현상을 보여주는 개념도이다.

도 2는 산화아연 나노와이어가 결합된 환원된 그래핀 옥사이드(RGO-ZnONWs)와 산화아연 나노와이어(ZnONWs)의 특성을 비교한 도면으로서, (A)는 RGO-ZnONWs와 ZnONWs의 주사전자현미경(Scanning Electron Microscopy, SEM) 이미지이고, (B)와 (C)는 RGO-ZnONWs와 ZnONWs의 에너지 분광(Energy Dispersive X-ray spectroscopy, EDX) 이미지로서, (B)는 이들의 아연 피크(zinc peak)를 (C)는 탄소 피크(carbon peak)를 나타낸다. (D)는 RGO-ZnONWs와 ZnONWs의 원자력 현미경(Atomie Force Microscopy, AFM) 이미지이고, (E)는 RGO-ZnONWs와 ZnONWs의 직경을 비교한 그래프이다.

도 3에서 (A)는 ZnONWs의 투과전자현미경(Transmission Electron Microscopy, TEM) 이미지이고 (B)는 이를 확대한 이미지, (C) RGO-ZnONWs의 TEM 이미지이고 (D)는 이를 확대한 이미지이다. 이때, (C)에 표시된 붉은색 화살표는 ZnONWs의 주위에 결합된 RGO의 존재를 암시하며, (D)에 표시된 붉은색 선은 RGO의 두께가 약 20 nm임을 보여준다.

도 4는 RGO-ZnONWs와 ZnONWs의 직경 분포를 나타낸 그래프이다. 각각 100개 이상의 샘플을 이용하여 직경을 측정하였으며, ZnONWs의 평균 직경은 81.5 ± 2.7 nm, ZnONWs의 평균 직경은 101.9 ± 2.7 nm로 나타났다. 두 그룹의 p-test 결과는 이들의 직경 차이가 상당함을 의미한다($p\text{-value} = 2.6 \times 10^{-7}$).

도 5에서 (A)는 본 발명에 따른 RGO-ZnONWs와 결합한 ssDNA가 고정된 공진기의 정규화된 공진 주파수 이동, RGO와 결합한 ssDNA가 고정된 공진기의 공진 주파수 이동 및 RGO-ZnONWs와 결합한 ssDNA가 고정되어 있지 않은 공진기의 공진 주파수 이동을 비교한 그래프이다. 실험에 사용된 RGO-ZnONWs 또는 RGO의 농도는 각각 1 mg/ml이었다. (B) 내지 (D)는 각 공진기들의 광학 이미지로서, (B)는 RGO-ZnONWs와 결합한 ssDNA가 고정된 공진기, (C)는 RGO와 결합한 ssDNA가 고정된 공진기, (D)는 RGO-ZnONWs와 결합한 ssDNA가 고정되어 있지 않은 공진기의 광학 이미지이다.

도 6은 증류수에서, ZnONWs의 농도에 따라, 본 발명에 따른 RGO-ZnONWs와 결합한 ssDNA가 고정된 공진기의 정규화된 공진 주파수 이동을 도시한 그래프이다. 이때, RGO의 농도는 1 mg/ml로 유지하였다.

도 7은 본 발명에 따른 RGO-ZnONWs와 결합한 ssDNA가 고정된 공진기의 광학 이미지를 나타낸 도면으로서, (A)는 ZnONWs의 농도가 10 $\mu\text{g/ml}$, (B)는 ZnONWs의 농도가 100 ng/ml, (C)는 ZnONWs의 농도가 0 ng/ml일 때의 광학 이미지이다.

도 8은 본 발명에 따른 센서의 ZnONWs에 대한 선택성을 확인한 그래프로써, 산화아연 나노와이어(ZnONWs), 은 나노와이어(AgNWs)에 대한 공진 주파수 이동은 산화아연 나노와이어(ZnONWs)에 대하여 정규화하였으며, 이때, 각 나노와이어들의 농도는 100 $\mu\text{g/ml}$, RGO의 농도는 1 mg/ml로 하였다.

도 9는 수돗물에서, ZnONWs의 농도에 따라, 본 발명에 따른 RGO-ZnONWs와 결합한 ssDNA가 고정된 공진기의 정규화된 공진 주파수 이동을 도시한 그래프이다. 이때, RGO의 농도는 1 mg/ml로 유지하였다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0019] 이하, 본 발명을 보다 상세하게 설명한다.

[0020] 본 발명은 수계 중에서 산화아연 나노와이어를 높은 선택성 및 고감도로 검출할 수 있는 산화아연 나노와이어 검출용 센서 및 이를 이용하여 수계 중에서 산화아연 나노와이어를 검출하는 새로운 검출방법에 관한 것이다.

[0021] 하기 도 1은 본 발명에 따른 센서의 구조 및 이를 이용하여 수계 중 산화아연 나노와이어를 검출하는 개략적인 개념을 도시한 도면으로서, 마이크로 공진기의 표면에 고정된 단일가닥 DNA(ssDNA)와 산화아연 나노와이어가 결합된 환원된 그래핀 옥사이드(RGO-ZnONWs)의 상호작용에 의해 발생하는 공진 주파수의 이동 현상을 보여주는 개념도이다. 도 1에 도시된 바와 같이 본 발명은 산화아연 나노와이어(ZnONWs)의 아연 원자(Zn)와 환원된 그래핀

옥사이드(RGO)의 탄소 원자(C)의 강한 반데르발스 인력에 의한 산화아연 나노와이어와 환원된 그래핀 옥사이드의 자가 응집(self-aggregation) 메커니즘과, 단일가닥 DNA(ssDNA)와 환원된 그래핀 옥사이드의 강한 상호작용에 의해 야기된 마이크로 공진기의 공진 주파수 이동을 이용하여 수계 중에서 높은 선택성 및 고감도로 산화아연 나노와이어를 검출할 수 있는 산화아연 나노와이어 검출용 센서를 제공한다.

[0022] 따라서, 본 발명에 따른 산화아연 나노와이어 검출용 센서는 수계 중 산화아연 나노와이어와 결합하는 탄소체; 상기 탄소체와 선택적으로 결합할 수 있는 단일가닥 DNA(ssDNA); 표면에 상기 단일가닥 DNA가 고정되며, 상기 탄소체와 단일가닥 DNA의 결합에 의해 질량이 증가함에 따라 공진 주파수 이동 현상을 나타내는 마이크로 공진기;를 포함한다.

[0023] 이때, 상기 탄소체는 산화아연 나노와이어의 아연 원자와 상호 결합할 수 있는 탄소 원자를 포함하면서, 상기 마이크로 공진기에 고정된 단일 가닥 DNA와 π - π 상호작용에 의해 결합하는 성질을 가진 것이라면 이에 제한되는 것은 아니지만, 예를 들어 환원된 그래핀 옥사이드, 그래핀 옥사이드, 탄소나노튜브로 이루어진 군에서 선택된 1종 이상의 탄소체인 것이 바람직하며, 하기 실시예의 결과로부터 알 수 있는 바와 같이 환원된 그래핀 옥사이드인 것이 더욱 바람직하다.

[0024] 또한, 상기 단일가닥 DNA는 상기 산화아연 나노와이어와 결합하는 탄소체와 π - π 상호작용에 의해 결합하는 성질을 가져야 하며, 따라서 단일가닥 DNA는 복수의 티민기(thymine)를 포함하는 것이 바람직하다. 이때, 상기 단일가닥 DNA는 5'-(TTT) n -3'(1 $\leq n \leq 20$)으로 표현될 수 있으며, 구체적인 일 예로서, 5'-TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT -3'일 수 있다.

[0025] 한편, 본 발명은 또한, (a) 산화아연 나노와이어를 포함하는 액상 시료에 산화아연 나노와이어와 결합하는 탄소체를 첨가하여 산화아연 나노와이어의 표면을 탄소체로 코팅하는 단계; (b) 마이크로 공진기의 표면 상에 상기 탄소체와 선택적으로 결합할 수 있는 단일가닥 DNA(ssDNA)를 고정하는 단계; (c) 상기 마이크로 공진기의 표면을 상기 액상 시료에 담그어 상기 탄소체와 상기 단일가닥 DNA의 선택적 결합을 유도하는 단계; 및 (d) 상기 선택적 결합으로 인한 질량 증가에 따른 상기 마이크로 공진기의 공진 주파수 이동현상을 분석하는 단계;를 포함하는 수계 중 산화아연 나노와이어의 검출방법을 제공한다.

[0026] 상기 탄소체, 단일가닥 DNA에 대한 내용은 전술한 바와 같으며, 상기 산화아연 나노와이어와 결합한 탄소체와 마이크로 공진기 표면에 고정된 단일가닥 DNA(ssDNA)의 선택적 결합으로 인해 야기되는 공진 주파수 이동(ω_{nrf})은 하기 식으로 표시될 수 있으며:

$$[0027] \quad \omega_{\text{nrfs}} = \delta \omega \times 100 / \omega_0$$

[0028] 상기 식에서, ω_0 는 상기 단일가닥 DNA를 마이크로 공진기의 표면 상에 고정화시킨 후 측정되는 공진 주파수이고, $\delta \omega$ 는 상기 탄소체와 상기 단일가닥 DNA의 선택적 결합 이후에 측정되는 공진 주파수와 상기 ω_0 의 차이이다.

[0029] 이하에서는 바람직한 실시예 등을 들어 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다. 그러나 이들 실시예 등은 본 발명을 보다 구체적으로 설명하기 위한 것으로, 본 발명의 범위가 이에 의하여 제한되지 않는다는 것은 당업계의 통상의 지식을 가진 자에게 자명할 것이다.

[0030] 1. 재료 및 방법

[0031] 1-1. 재료

[0032] 본 발명에 사용된 도데실 황산 나트륨(sodium dodecyl sulfate(SDS)), 탄산나트륨(Na_2CO_3), 염화아연(ZnCl_2), 일산화규소(SiO), 황산(H_2SO_4), 과산화수소 용액(H_2O_2), 디메틸설폭사이드(dimethyl sulfoxide(DMSO)), 트리스-에틸렌 디아민 테트라 아세트산(EDTA) 완충 용액은 시그마 알드리치(St.Louis,MO,USA)에서 구입하였다. 5'-TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT-3' 단일가닥 DNA는 Integrated DNA Technology (Coralville,IA,USA)에서 구입하였다. 은 나노와이어(AgNWs)는 Ditto Technology(Seoul, Korea)에서 구입하였으며, 환원된 그래핀 옥사이드(RGO)는 Nanocs(Boston,MA,USA)에서 구입하였다.

- [0033] 1-2. 산화아연 나노와이어(ZnONWs)와 이산화규소 나노와이어(SiO₂NWs)의 합성
- [0034] 산화아연 나노와이어를 합성하기 위해, 50 ml의 탈이온수에 ZnCl₂ 1.25g, SDS 5g, 탄산나트륨 25g를 첨가하였다. 다음으로, 자기 교반기를 사용하여 30분 동안 혼합하고 400 K에서 12시간 동안 유지하였다. 여과 및 건조 처리 후, 산화아연 나노와이어 분말을 수득하였다. 유사한 방법으로, 일산화 규소 분말을 사용하여 SiO₂ 나노와이어를 제조하였으며(순도:99.99%, 입자 크기:73 μm)(Hu et al., 2007), 0.5g의 일산화 규소 분말과 50 ml의 탈이온수 혼합물을 6-10 MPa의 압력하에서 12 시간 동안 450 K로 가열하여 제조하였다(Lin et al., 2007).
- [0035] 1-3. 산화아연 나노와이어가 결합된 환원된 그래핀 옥사이드(RGO-ZnONWs)의 합성
- [0036] RGO-ZnONWs는 산화아연 주위에 RGO를 분산시킴으로써 형성하였다. 우선, RGO 분말과 산화아연 나노와이어를 증류수에 첨가하였다. 모든 경우에 있어서, RGO의 농도는 1 mg/ml로 유지하였다. 혼합물을 아이스워터에 넣고 5분 동안 20% 전력레벨(BETATEK, Inc., Toronto, Canada)로 초음파 처리하였다.
- [0037] 1-4. RGO-ZnONWs의 특성화
- [0038] 수득한 RGO-ZnONWs에 대하여 AFM, FE-SEM, EDX 및 TEM 분석을 실시하였다. AFM 분석을 위해, ZnONWs와 RGO-ZnONWs의 직경을 나노 드라이브 컨트롤러가 장착된 인-노바 현미경(Bruker, Santa Barbara, CA, USA)을 사용하여 주위 온도 및 압력하의 공기 중에서 측정하였다. 영상 기록은 상용 캔틸레버 팁(TESP, Veeco, USA)을 사용하여 기록하였다. 모든 이미지는 3 μm × 3 μm의 동일한 크기와 0.65 Hz의 스캔 속도로 촬영하고, SPM 연구소 분석 소프트웨어 V7.00 (Veeco, USA)를 사용하여 기록하였다. 높이 및 2차원 이미지는 Nanoscope analysis software V1.20 (Bruker, Santa Barbara, CA, USA)를 사용하여 측정하였다. FE-SEM 이미지와 EDX는 에너지 분산형 X-레이 분석기가 구비된 FE-SEM(JSM-7100F, JEOL, Peabody, MA, USA)을 사용하여 20 kV의 가속 전압하에서 측정하였으며, TEM 이미지는 HRTEM (Tecnai20, FEI, Hillsboro, OR, USA)를 사용하여 200 kV의 가속 전압하에서 측정하였다.
- [0039] 1-5. 본 발명에 따른 ssDNA가 고정된 마이크로 공진기의 제조
- [0040] 먼저 마이크로 공진기로는 30 μm × 40 μm × 125 μm(폭 x 두께 x 길이)의 치수 및 최대 40 N/m의 강도를 갖는, 표면에 금 필름이 코팅되어 있는 공진기(PPP-NCH-Au, Bruker, Madison, WI, USA)를 사용하였다. 먼저, 마이크로 공진기를 증류수로 세척하고 하루 동안 상온 및 상압하에서 데시케이터에서 건조시켰다. 인큐베이션 후, 공진기를 피라니아 용액(H₂O₂와 H₂SO₄의 부피비는 1:2)에 2분 동안 침지하고, 증류수로 수회 세정 및 데시케이터에서 건조하였다. ssDNA 고정화를 위해 공진기를 tris-EDTA 버퍼용액에 100 μM ssDNA와 함께 2시간 동안 침지시켰다. 이후, 공진기를 증류수에 세척하고 상온 및 상압하에서 하루동안 데시케이터에서 건조시켰다.
- [0041] 1-6. 본 발명에 따른 센서의 ZnONWs의 검출 평가
- [0042] 본 발명에 따른 센서의 감도를 평가하기 위해, 다양한 농도(1 mg/mL, 100 μg/mL, 10 μg/mL, 100 ng/mL, 1 ng/mL, and 0 mg/mL)의 ZnONWs를 준비하였다. 그리고나서, RGO-ZnONWs를 완전히 흡착시키기 위해, ssDNA 고정된 공진기를 RGO-ZnONWs가 포함된 용액에 하루 동안 침지시켰다. 침지 후, 공진기를 DMSO로 세척하였다. 그리고 나서, 공진기를 데시케이터에서 하루동안 건조시켰으며, AFM 오실레이터 프로그램(Veeco, Santa Barbara, CA, USA)을 사용하여 공진 주파수를 측정하였다.
- [0043] 1-7. 본 발명에 따른 센서의 ZnONWs의 선택적 검출 및 수돗물에서의 검출 평가
- [0044] 산화아연의 선택적 검출을 평가하기 위해 본 발명에 따른 센서의 ZnONWs와 SiO₂NWs 및 AgNWs에 대한 검출을 비교하였다. ZnONWs와 유사하게, 각 나노와이어당 100 μg/ml의 RGO와 함께 증류수에서 초음파 처리하여 SiO₂NWs 및 AgNWs 용액을 준비하였다. 초음파 처리 후, ssDNA 고정된 공진기를 각 용액에 침지시킨 후, DMSO로 세척하였

다. 그리고 나서, 공진기를 테스케이터에서 하루동안 건조시킨 후 공진 주파수를 측정하였다. 또한 실제 수계 중에서의 검출 성능을 확인하기 위해 상술한 절차와 동일한 방법을 이용하여 실제 수돗물(Korea University, Seoul, Korea)에서 ZnONWs의 검출을 측정하였다.

2. 결과

2-1. RGO-ZnONWs의 특성 확인

증류수에서 RGO와 ZnONWs 용액의 초음파처리에 의해 RGO는 ZnONWs와 결합하여 RGO-ZnONWs를 형성한다. 형성된 RGO-ZnONWs의 존재를 확인하기 위해, 우리는 ZnONWs와 RGO-ZnONWs의 SEM, EDX and AFM 이미지를 비교하였다(도 2). SEM 이미지는 ZnONWs와 RGO-ZnONWs 모두 나노와이어가 포함되어 있어 유사한 형태를 보여주었다(도 2의 (A)). EDX 이미지 또한 도 2의 (B)의 나노와이어의 전체 길이방향을 따라 붉은 색으로 표시된 바와 같이 비슷한 아연 피크를 보여주었다. 그러나, 도 2의 (C)의 초록색으로 표시된 바와 같이 탄소 피크는 오직 RGO-ZnONWs의 표면을 따라 균일하게 형성되어 있음을 관찰하였다. 탄소 피크는 표면에 RGO가 존재를 의미하며, ZnONWs의 표면에 RGO가 잘 코팅되어 있음을 확인할 수 있었다. 도 2의 (D)는 ZnONWs와 RGO-ZnONWs의 구조에 대한 AFM 이미지이다. ZnONWs는 나노와이어의 구조가 선명한 반면, RGO-ZnONWs는 10 nm 두께의 플레이크가 관찰되었다. 플레이크의 형성은 ZnONWs의 둘레(80 nm)에 비해 RGO의 사이즈(100 nm)가 더 크기 때문에 발생하는 RGO의 과잉에 의해 일어난다. TEM 이미지(도 3)를 살펴보면, ZnONWs의 평균 직경은 81.5 ± 2.7 nm이고, RGO-ZnONWs의 평균 직경은 101.9 ± 2.7 nm으로 관찰되었는데(도 2의 (E) 및 도 4), 이는 RGO의 두께의 약 2배에 해당하는 차이로서, 이를 통해 ZnONWs에 RGO가 잘 코팅되어 있음을 확인할 수 있다.

2-2. 본 발명에 따른 센서의 ZnONWs의 검출 평가

본 발명에 따른 센서의 ZnONWs의 감도를 측정하기 위해, 다양한 ZnONWs의 농도 하에서 공진기의 공진 주파수 이동을 측정하였다. 이때 측정된 공진주파수 이동(ω_{nfs})은 아래의 식으로 표시될 수 있으며,

$$\omega_{nfs} = \delta \omega \times 100 / \omega_0$$

상기 식에서, $\delta \omega$ 는 산화아연 나노와이어의 결합에 의해 유발되는 공진 주파수 이동을 나타내고, ω_0 는 ssDNA 고정화 후의 공진 주파수를 나타낸다.

하기 도 5는 본 발명에 따른 RGO-ZnONWs와 결합한 ssDNA가 고정된 공진기의 정규화된 공진 주파수 이동, RGO와 결합한 ssDNA가 고정된 공진기의 공진 주파수 이동 및 RGO-ZnONWs와 결합한 ssDNA가 고정되어 있지 않은 공진기의 공진 주파수 이동을 비교한 그래프이다. 이를 통해 과량의 RGO가 용액 내에 존재하는 경우의 ssDNA가 고정된 공진기의 공진 주파수 이동과, RGO-ZnONWs에 대한 ssDNA가 고정되지 않은 공진기의 공진 주파수 이동을 확인할 수 있었다. 측정 결과 RGO에 대한 ssDNA 고정화 공진기의 공진주파수 이동은 $0.06 \pm 0.3\%$, RGO-ZnONWs에 대한 ssDNA가 고정되지 않은 공진기의 공진주파수 이동은 $0.02 \pm 0.01\%$ 로 측정되었다. 이와는 달리, 본 발명에 따른 RGO-ZnONWs와 결합한 ssDNA가 고정된 공진기의 주파수 이동은 $1.34 \pm 0.16\%$ 로 측정되었으며, 이처럼 큰 공진주파수 이동은 RGO와 ssDNA 또는 RGO-ZnONWs와 공진기 표면의 금 사이의 상호작용보다, RGO-ZnONWs와 ssDNA의 상호작용에 의한 것임을 암시한다. 또한, 우리는 다양한 농도의 RGO-ZnONWs에 대한 ssDNA 고정화 공진기의 주파수 이동을 측정하였다(도 6). 측정 결과, RGO-ZnONWs의 농도가 각각 1 mg/mL, 100 μ g/mL, 10 μ g/mL, 100 ng/mL, 1 ng/mL, 및 0 g/mL(대조군)인 경우의 공진 주파수 이동은 $1.34 \pm 0.16\%$, $0.56 \pm 0.15\%$, $0.26 \pm 0.02\%$, $0.15 \pm 0.03\%$, $0.09 \pm 0.01\%$, $0.05 \pm 0.02\%$ (대조군)으로 나타났다. 또한, 검출 후 각 공진기들의 광학 이미지들을 관찰한 결과(도 7), RGO-ZnONWs는 공진기의 전체 영역에서 관찰되었으며, RGO-ZnONWs의 농도가 증가함에 따라 공진기 표면에 존재 영역이 증가하였다. 표면에 존재 영역은 직접적으로 질량 로딩과 관련되어 있으며, 존재영역의 증가는 공진 주파수 이동을 가져온다. RGO-ZnONWs의 농도가 1 ng/ml인 경우에는 대조군과 큰 차이가 관찰되지 않은 것에 비해, RGO-ZnONWs의 농도가 100 ng/mL인 경우에는 대조군에 비해 3배 이상 높게 측정되었는데 검출한계(limits of detection, LOD)는 100 ng/ml로 나타났다. 이러한 LOD 결과는 매우 의미있는 것인데, 이러한 LOD는 인간 세포들에서 관찰되는 ZnONWs의 독성 농도(10 μ g/ml)에 비해서 1/100배 수준으로 작은 값이기 때문이다(Muller et al., 2010). 따라서, 본 발명에 따른 센서는 매우 높은 감도로 ZnONWs를 검출할 수 있으며, 액상에서 ZnONWs를 조기에 검출할 수 있음을 알 수 있다.

[0053] 2-3. 본 발명에 따른 센서의 ZnONWs의 선택적 검출

[0054] 본 발명에 따른 센서의 ZnONWs에 대한 선택성을 확인하기 위해 AgNWs 및 SiO₂NWs에 대한 감도를 측정하였다. 이들을 비교 대상으로 선정한 이유는 AgNWs 및 SiO₂NWs는 모두 독성 및 나노와이어 구조를 가지고 있기 때문이다. 이들의 검출은 100 μ g/mL의 농도 하에서 수행하였다. ZnONWs와의 직접적 비교를 위해 그들의 공진주파수 이동은 ZnONWs에 대하여 정규화하였다(도 8). AgNWs 및 SiO₂NWs의 NRFS는 ZnONWs(100%)에 대하여 $2.5 \pm 7.7\%$, $9.6 \pm 4.3\%$ 로 측정되었다. 이처럼 낮은 NRFS는 본 발명에 따른 센서가 ZnONWs에 대하여 매우 높은 선택성을 가진다는 것을 암시한다. 이러한 높은 선택적 검출 능력은 ZnONWs와 RGO의 강한 반데르발스 인력에 기인한다. 따라서, 본 발명에 따른 센서는 실제 환경에서 ZnONWs에 대하여 매우 높은 선택성을 가질 수 있음을 알 수 있다.

[0055] 2-4. 본 발명에 따른 센서의 수돗물에서의 ZnONWs의 검출 평가

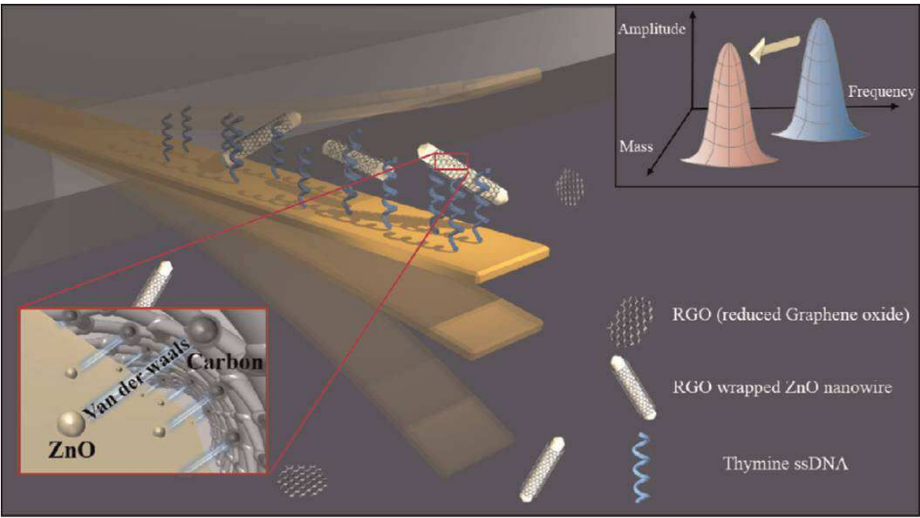
[0056] 본 발명에 따른 센서의 실제 환경에서의 검출을 평가하기 위해 실제 수돗물에서 산화아연 나노와이어의 검출 실험을 수행하였다. 실험은 증류수 대신 실제 수돗물을 사용한 것을 제외하고는 동일한 방법을 사용하였다. 도 9에 도시된 바와 같이 다양한 농도하에서 실험을 진행하였으며, 측정결과 RGO-ZnONWs의 농도가 각각 1 mg/mL, 10 μ g/mL, 100 ng/mL, 및 0 g/mL(대조군)인 경우의 공진 주파수 이동은 $0.64 \pm 0.08\%$, $0.16 \pm 0.02\%$, $0.002 \pm 0.001\%$, $-0.02 \pm 0.01\%$ (대조군)으로 나타났다. 증류수에서의 검출과 유사하게 실제 수돗물에서도 ZnONWs의 농도가 증가할수록 NRFS가 높게 관찰되었다. 다만, 증류수에서와는 달리 NRFS 값이 다소 감소하였는데, 이는 수돗물 중에 포함된 이온 또는 불순물에 의한 것으로 보여진다. 이러한 물질들은 공진기에 고정된 ssDNA에 영향을 준 것으로 추측된다. 결과적으로 RGO와 공진기에 고정된 ssDNA의 상호작용을 약화시킨 것으로 볼 수 있다. RGO-ZnONWs의 농도가 100 ng/mL인 경우에는 대조군과 큰 차이가 관찰되지 않은 것에 비해, RGO-ZnONWs의 농도가 10 μ g/mL인 경우에는 대조군에 비해 매우 높은 NRFS가 측정되었는데, 실제 수돗물에서의 LOD는 10 μ g/mL로 측정되었다. 실제 수돗물에서 NRFS가 다소 감소하였지만 10 μ g/mL의 LOD는 인간 세포들에서 관찰되는 산화아연 나노와이어의 독성 농도(10 μ g/mL)와 거의 동일한바, 본 발명은 실제 수계 중에서도 매우 높은 감도로 ZnONWs를 검출할 수 있음을 알 수 있다.

[0057] 앞서 살펴본 바와 같이 본 발명에서는 ZnONWs의 아연 원자(Zn)와 RGO의 탄소 원자(C)의 강한 반데르발스 인력에 의한 ZnONWs와 RGO의 자가 응집(self-aggregation) 메커니즘과 마이크로 공진기에 고정된 단일가닥 DNA(ssDNA)와 RGO의 강한 상호작용을 이용하여 산화아연 나노와이어를 검출할 수 있는 신규한 센서 및 이를 이용한 산화아연 나노와이어의 검출방법을 제공한다.

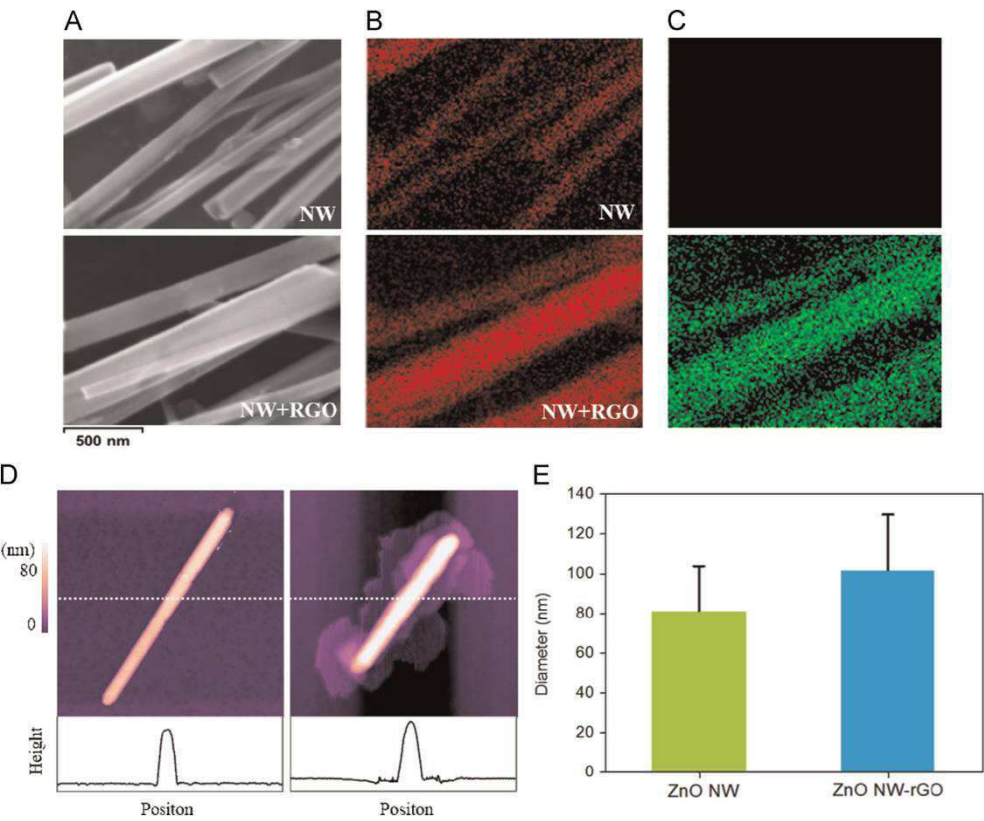
[0058] 이때, 상기 실시예의 결과로부터 알 수 있는 바와 같이 ssDNA가 고정된 공진기는 ssDNA 고정되지 않은 공진기에 비해 RGO-ZnONWs가 강하게 흡착되는 것을 알 수 있다. 또한, 본 발명에 따른 센서의 증류수에서의 LOD는 인체에 독성을 일으키는 것으로 보고된 산화아연 나노와이어의 독성 농도(10 μ g/mL)에 비해서 1/100배 수준으로 작은 값으로 측정되었으며, 실제 수돗물에서의 LOD는 인체에 독성을 일으키는 농도에 해당하는 10 μ g/mL로 측정되었고, ZnONWs에 대한 매우 높은 선택성을 확인하였는데, 본 발명에 따른 센서는 높은 선택성 및 고감도로 ZnONWs를 검출할 수 있으며, 액상에서 ZnONWs를 조기에 검출할 수 있음을 알 수 있다. 따라서, 본 발명에 따른 검출센서 및 검출방법은 ZnONWs가 환경 및 인체에 미치는 독성을 분석할 수 있는 우수한 수단을 제공할 수 있다.

도면

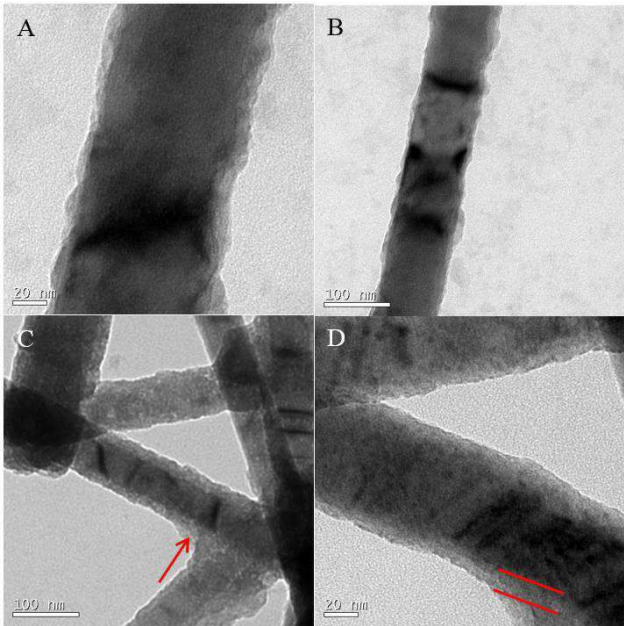
도면1



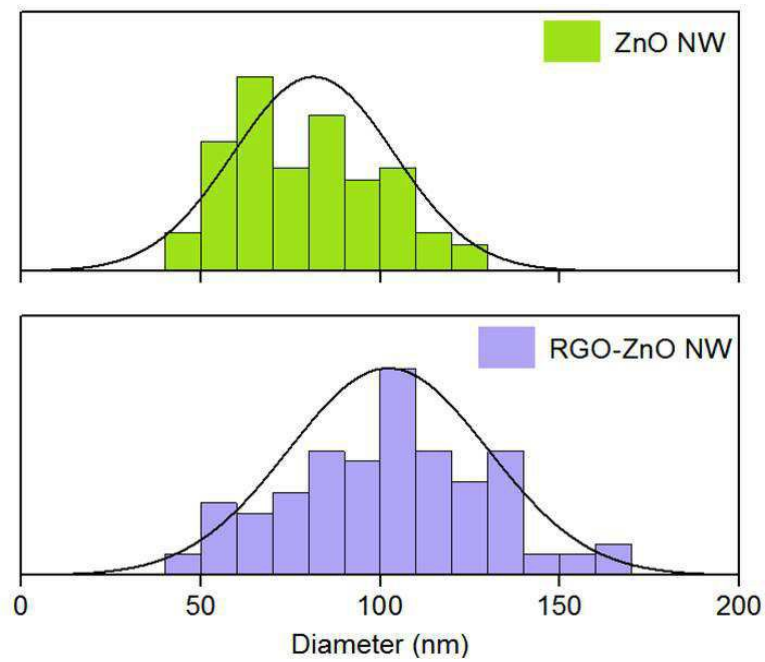
도면2



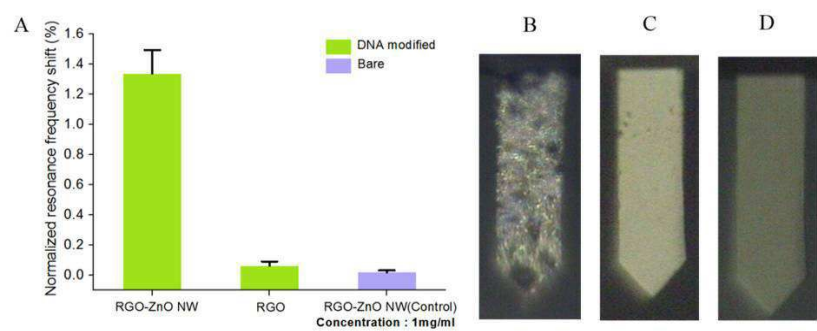
도면3



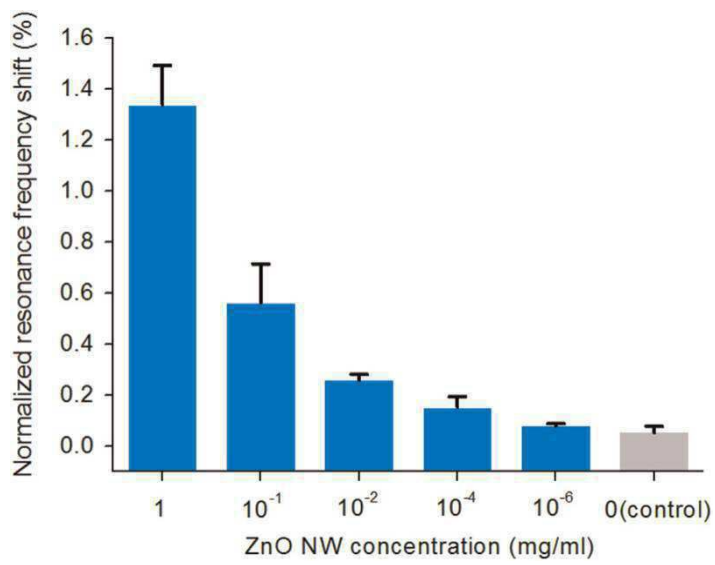
도면4



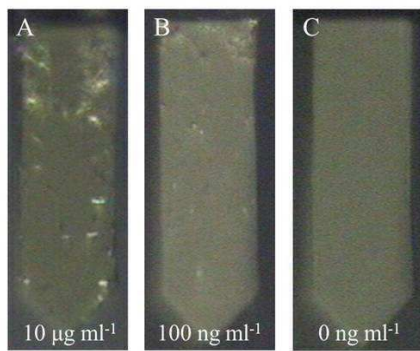
도면5



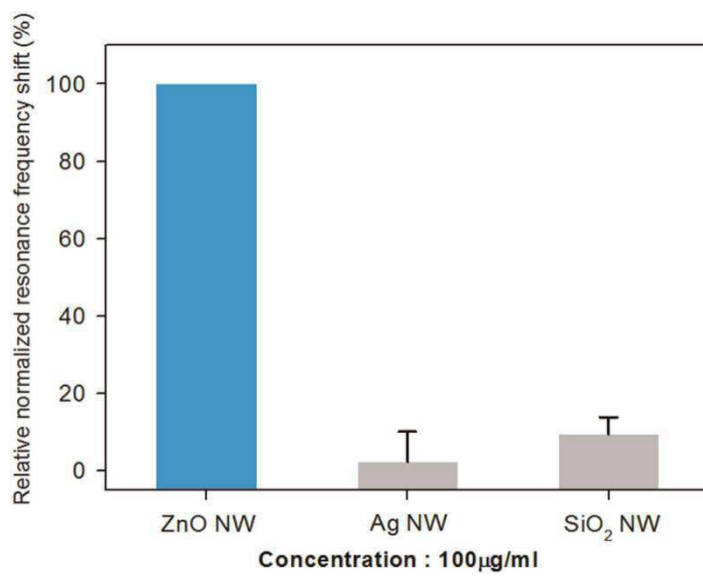
도면6



도면7



도면8



도면9

