실리카 나노 입자의 크기에 따른 청색 형광 특성 연구

윤지희, 김기출^{*} 목원대학교 신소재화학공학과

A Study on the Blue Fluorescence Characteristics of Silica Nanoparticles with Different Particle Size

Ji-Hui Yoon, Ki-Chul Kim^{*} Department of Advanced Chemical Engineering, Mokwon University

요 약 유기 염료가 도핑 된 실리카 나노입자는 바이오 라벨링, 바이오 이미징 및 바이오 센성에 사용되고 있는 유망한 나노소재이다. 일반적으로 형광 실리카 나노입자는 수정된 스토버 방법(Stöber Method)으로 합성된다. 본 연구에서는 다양한 크기를 갖는 염료가 첨가되지 않은 형광 실리카 나노입자를 수정된 스토버 합성법인 졸겔 공정으로 합성하였다. 졸겔 공정 중에 기능성 물질인 APTES를 첨가제로 첨가하였다. 졸겔 공정으로 합성된 실리카 나노입자는 400 °C에서 2시간 동안 하소되었다. 합성된 실리카 나노입자의 표면형상과 크기를 전계방출 주사전자현미경으로 조사하였고, 합성 된 실리카 나노입자의 형광 특성은 파장 365 nm의 자외선 램프를 조사하여 확인하였다. 또한 합성된 실리카 나노입자 의 광발광 (PL) 특성을 형광 분석 형광법으로 조사하였다. 그 결과 합성된 실리카 나노입자는 입자의 크기와 무관하게 모두 청색 형광 특성을 갖는 것으로 확인되었다. 특히, 실리카 나노입자의 크기가 증가할수록 PL 강도는 감소하였다. 염료가 첨가되지 않은 실리카 나노입자의 청색 형광 특성은 APTES 층의 NH₂ 기능기와 실리카 매트릭스 뼈대 내부의 산소관련 결함과의 결합에 기인하는 것으로 추정된다.

Abstract Organic dye-doped silica nanoparticles are used as a promising nanomaterials for bio-labeling, bio-imaging and bio-sensing. Fluorescent silica nanoparticles(NPs) have been synthesized by the modified Stöber method. In this study, dve-free fluorescent silica NPs of various sized were synthesized by Sol-Gel process as the modified Stöber method. The functional material of APTES((3-aminopropyl)triethoxysilane) was added as an additive during the Sol-Gel process. The as-synthesized silica NPs were calcined at 400 °C for 2 hours. The surface morphology and particle size of the as-synthesized silica NPs were characterized by field-emission scanning electron microscopy. The fluorescent characteristics of the as-synthesized silica NPs was confirmed by UV lamp irradiation of 365 nm wavelength. The photoluminescence (PL) of the as-synthesized silica NPs with different size was analyzed by fluorometry. As the results, the as-synthesized silica NPs exhibits same blue fluorescent characteristics for different NPs size. Especially, as increased of the silica NPs size, the intensity of PL was decreased. The blue fluorescence of dye-free silica NPs was attributed to linkage of NH₂ groups of the APTES layer and oxygen-related defects in the silica matrix skeleton.

Keywords : Blue Fluorescent, Organic Dye, Silica Nanoparticle, Sol-Gel Process, Stöber Method

1. 서론

현대의학에서는 질병의 감염 여부 등을 판단하기 위해서 유전자를 검사하는 DNA 마이크로 어레이(Microarray) 를 이용한 분자진단검사를 사용하고 있다. 이때 DNA의 원하는 부분을 복제하고 증폭시키는 중합효소 연쇄반응 (PCR, Polymerase Chain Reaction) 후에, 바이오 라 벨링(Bio-labeling) 및 바이오 이미징(Bio-imaging)을 위해서 유기 형광 염료(Organic Fluorescent Dye)가 일반적으로 사용되고 있다. 하지만 이러한 유기 형광 염 료는 형광 강도가 낮고, 주위의 분자와 반응하여 광안정 성이 떨어지는 광퇴색(Photobleaching) 현상이 발생하며, 형광 붕괴 특성 (Fluorescence Decay Characteristics)이 매우 짧아서 고감도 감지 및 실시간 모니터링에는 부적 합하다[1-3]. 이러한 한계점을 해결하기 위하여 다양한 연구가 진행되었고, 특히 최근에 10 nm 크기의 양자점 (Quantum Dot)이 주목을 받고 있다. 대표적인 양자점 나노소재는 CdSe, CdS, ZnS, CdTe, PbSe, ZnSe 등과 같은 나노입자들로서, 유기염료보다 10~20배 밝은 형광 특성과 다양한 색상구현성, 높은 광안정성 등을 가지고 있어서, 바이오 이미징, 바이오 라벨링, 및 바이오 센싱 (Bio-sensing)에 활용되고 있다[4]. 하지만 양자점 나노 소재도 깜박임 효과(Blinking Effect)의 단점이 있으며, 인체에 유해한 무거운 독성원소를 사용하는 문제점이 있 다[1,5].

형광 염료가 도핑(Doping) 된 실리카(Silica) 나노입 자는 유기 형광 염료의 낮은 형광감도 및 광퇴색의 문제 점을 해결함은 물론 양자점 나노소재가 가지고 있는 깜 박임 현상과 독성 문제를 해결할 수 있어서 바이오 라벨 링 및 바이오 이미징 소재로 주목을 받고 있다. 특히 형 광 염료가 도핑 된 실리카 나노입자는 낮은 독성, 높은 생체 적합성, 높은 형광특성, 높은 친수성 및 표면개질적 특성을 가지고 있다고 보고되고 있다[1-3, 5-9].

또한 유기 형광 염료를 도핑하지 않은 실리카 나노입 자의 경우에도 실리카 합성과정 중에 기능성 물질인 APTES((3-aminopropyl)triethoxysilane)를 첨가시키 면 청색의 형광특성이 나타나서 바이오 이미징 및 바이 오 라벨링에 활용될 수 있고, 형광 붕괴 특성이 유기 형 광 염료나, 유기 형광 염료가 도핑 된 실리카 나노입자보 다 우수함이 보고되었다[10,11].

따라서 본 연구에서는 졸겔(Sol-Gel) 공정으로 다양 한 크기를 갖는 실리카 나노입자를 합성하였고, 졸겔 공 정에 APTES를 첨가하여, 실리카 나노입자의 크기에 따 른 청색 형광 특성을 조사하였다. 합성된 청색 형광 실리 카 나노입자의 표면형상과 크기는 전계방출 주사전자현 미경(Field Emission Scanning Electron Microscope, 이하 FE-SEM)으로 분석하였고, 실리카 나노입자의 크기에 따른 형광특성은 파장 365 nm의 자 외선 램프(UV Lamp)를 조사하여 확인하였다. 특히 실리 카 나노입자의 크기에 따른 형광특성을 정량화하기 위하 여 형광 분석 형광법(Fluorometry)으로 광발광(PL, Photoluminescence)을 조사하였다.

2. 실험방법

입자 크기가 100 nm 이하인 실리카 나노입자를 균일 하게 합성하는 대표적인 방법은 마이크로에멀젼 방법 (Microemulsion Method)이다. 하지만 마이크로에멀젼 방법으로 유기 형광 염료가 도핑 된 실리카 나노입자를 합성하는 과정은 너무 복잡하고, 물리적인 형광단 연결 (Fluorophore Linkage)에서 염료가 입자 밖으로 침출 (Leach)되는 문제점이 있다[3,8]. 따라서 균일한 실리카 나노입자를 손쉽게 합성할 수 있는 졸겔 공정의 스토버 법(Stöber Method)을 변형하여 크기가 다른 청색 형광 실리카 나노입자를 합성하였다[1,3,7,9-11].

실리카 나노입자의 합성에 사용된 시약은 에탄을 (Ethanol, 99.9%, Samchun), 암모니아수(Ammonium Hydroxide, 38% NH₃ in H₂O, 99.99%, Sigma Aldrich, #338818), TEOS(Tetraethyl Orthosilicate, 95%, Samchun), APTES(99%, Sigma Aldrich, #440140), 탈이온수(Deionized Water, 비저항 18.2 M Ω cm) 등이다. 스토버법으로 실리카 나노입자를 합성 할 때 TEOS 및 암모니아수의 양을 조절하면 실리카 나 노입자의 크기를 다양하게 조절할 수 있다[1,3,9-11]. 따 라서 Table 1에 나타낸 것과 같이 시약의 양을 조절하여 평균적으로 140 nm, 190 nm 및 240 nm 크기의 실리 카 나노입자를 합성하였으며, 합성공정 중에 APTES를 첨가하여 청색 형광 특성을 나타내도록 하였다.

Table 1. Summary of the synthesis conditions of blue fluorescent silica nanoparticles (BFSNPs) for different size.

Average	Ethanol	Ammonia	DI water	TEOS	APTES
Size	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)	(mL)
140 nm	49.5	1.5	4.725	2.3	0.07
190 nm	49.5	3.3	1.8	4.4	0.07
240 nm	25.0	1.0	0.5	1.15	0.07

청색 형광 실리카 나노입자를 합성하는 과정은 다음과 같다. 우선 아세톤(Acetone), 에탄올, 탈이온수 등으로 5 분씩 초음파 세척된 비이커에 에탄올과 암모니아수를 정 해진 양만큼 넣고 5분 동안 500 rpm으로 교반시킨 후, TEOS와 APTES를 첨가하고 24시간 동안 500 rpm으로 교반하였다. 이때 교반기의 온도는 40 °C이었다. 이후 15,000 rpm으로 20분 동안 원심분리 하였으며, 실리카 나노입자 합성 과정에서 남아있는 미반응 반응물을 완전 히 제거하기 위하여 에탄을로 헹구면서(Rinse) 원심분리 공정을 3회 반복하였다. 이후 침전물을 알루미나 도가니 (Alumina Crucible) 속에 넣고 60 °C에서 24시간 동안 공기 중에서 건조하였다. 졸젤 공정 중에 첨가된 APTES 는 하소(Calcination) 공정을 거쳐야 청색형광 특성이 나타나므로, 400 °C에서 2시간 동안 공기 중에서 열처리 하였다[10,11]

청색 형광 실리카 나노입자의 표면형상과 크기는 FE-SEM(FEI, Sirion)으로 분석하였다. 이때 가속전압은 10.0 kV이었고, FE-SEM 분석시 절연체 시료에서 발생 하는 대전효과(Charging Effect)에 의한 이미지 왜곡을 방지하기 위해서 10 nm 두께의 백금(Platinum) 박막을 코팅하였다. 청색 형광 실리카 나노입자의 PL 특성은 형 광 분석 형광법(Horiba, QM-400)으로 조사하였다.

3. 실험결과 및 고찰

졸겔 공정인 스토버법을 변형하여 APTES가 첨가된 다양한 크기를 갖는 청색 형광 실리카 나노입자를 합성 하였고, FE-SEM으로 실리카 나노입자의 표면형상과 크 기를 분석하였으며, Fig. 1에 그 결과를 나타내었다. FE-SEM 분석의 시편은 합성된 청색 형광 실리카 나노입 자를 에탄올에 분산시킨 후, 아세톤, 에탄올, 탈이온수로 초음파 세척된 Si 웨이퍼 조각 기판 위에 스핀 코팅(Spin Coating)하여 준비하였다. Fig. 1 (a), (c)를 보면 비교적 구형의 나노입자가 합성된 것을 볼 수 있다. 하지만 Fig. 1 (e)에서는 구형이 아닌 나노입자 및 불균일한 침전물도 일부 관찰된다. 이것은 APTES의 함량과 TEOS의 함량 합에서 APTES의 부피비가 증가할수록 구형실리카 나노 입자에서 벗어나 입자가 뭉치거나 표면형상이 일그러짐 을 보고한 선행연구결과와 일치되는 결과이다[10,11]. Table 1에 나타낸 시약의 양으로부터 계산된 APTES의 부피비는 나노입자의 크기 140 nm, 190 nm, 240 nm 각각에 대하여 2.95%, 1.57%, 5.74%이었다. 즉 APTES 의 함량이 가장 낮은 Fig. 1 (c)의 경우가 가장 균일한 구 형 형태의 청색 형광 실리카 나노입자가 합성된 것을 확 인할 수 있다. Fig. 1 (b), (d), (f)는 FE-SEM 이미지의 일부 영역을 선택하여 나노입자의 크기 분포를 Leica LAS v4.6.0 Image Analysis Module 소프트웨어를 이 용하여 통계적으로 처리한 결과로, 나노입자의 평균 크기 는 Fig. 1 (a), (c), (e) 각각에 대하여 140 nm, 190 nm, 240 nm이었다.

졸겔 공정으로 합성된 청색 형광 실리카 나노입자를 에탄올 용액에 분산시킨 후(분산액 농도는 11.6 mg/mL) 주 광조명(Daylight) 아래에서의 모습을 찍은 사진을 Fig. 2 (a)에 나타내었고, 암실 속에서 파장 365 nm의 자외 선 조명 아래에서의 모습을 찍은 사진을 Fig. 2 (b)에 나 타내었다. 주광조명 아래에서는 약간 흰색 톤(Tone)으로 뿌연 모습이었지만 자외선 조명 아래에서는 파란색으로 형광 특성이 나타나는 것을 확인할 수 있다. 특히 나노입 자의 크기가 작을수록 형광 특성이 우수한 것을 알 수 있 다. Fig. 2 (b)의 사진에서 형광의 세기는 입자의 크기에 따라 변하였지만, 색깔은 그다지 변하지 않은 것으로 보 인다. 이러한 결과는 APTES의 농도가 증가할수록 실리 카 나노입자의 크기가 줄어들고, 형광 색깔이 변화는 선 행 연구와 다른 결과이다[11]. 이러한 차이는 실리카 합 성과정에서 용액의 농도를 다르게 합성하였기 때문이다. 즉 본 연구에서는 졸겔 공정에서 실리카 나노입자의 크 기 제어를 우선적으로 고려하고, 구형의 청색 형광 실리 카 나노입자를 합성할 수 있는 APTES 함량 8 % 미만의 범위에서 청색 형광 실리카 나노입자를 합성하였고, A. M. Jakob 등은 APTES의 함량을 0 ~ 49 %로 변화시키 면서 나노입자를 합성하고 형광특성을 분석하였다[11].

졸겔 공정 중에 APTES를 첨가한 청색 형광 실리카 나 노입자는 하소 공정을 거치지 않으면 청색 형광 특성이 나타나지 않는 것으로 보고되었다[10,11]. 따라서 이러한 현상을 확인하기 위하여 하소 공정을 거치지 않은 실리 카 나노입자와 하소 공정을 거친 실리카 나노입자를 에 탄올에 분산시킨 후 파장 365 nm의 자외선 램프 조명 아래에서의 형광특성을 사진 찍어서 Fig. 3에 나타내었 다. Fig. 3 (a)에서처럼 하소를 하지 않은 실리카 나노입 자는 전혀 형광 특성이 나타나지 않는 것을 확인할 수 있 다. 졸겔 공정 중에 APTES가 첨가된 청색 형광 실리카 나노입자에서 하소공정 후에 청색 형광 특성이 나타나는 것은 실리카 매트릭스 뼈대(Matrix Skeleton) 속에 산 소와 관련된 결함 O-O-Si≡(CO₂)과 APTES 층에 있는 NH₂ 기능기의 결합과 관련이 있은 것으로 알려져 있다







Fig. 1. FE-SEM images of as-synthesized BFSNPs for different average particle size (a) 140 nm, (c) 190 nm (e) 240 nm. Statistical analysis results of particle size distribution for different average particle size of (b) 140 nm, (d) 190 nm, and (f) 240 nm, respectively.



Fig. 2. Photographs of as-synthesized BFSNPs dispersed solutions(concentration of 11.6 mg/mL) with different particle size for different irradiation conditions (a) under daylight, (b) under UV Lamp of 365 nm wavelength.



Fig. 3. Photograph of as-synthesized BFSNPs(190 nm) dispersed solutions under 365 nm UV lamp irradiation for different synthetic process (a) un-calcined BFSNPs (b) calcined BFSNPs at 400 °C in conventional furnace with atmospheric pressure.



Fig. 4. Photoluminescence(PL) spectra of as-synthesized BFSNPs dispersed solutions for different particle size. The PL spectra of BFSNPs dispersed solutions were measured with quartz cell by fluorometry.

[10]. 즉 400 °C 이상에서 하소를 하지 않으면 실리카 매 트릭스 속에서 NH₂ 기능기가 산소결함과 결합하지 못하 기 때문에 형광특성이 나타나지 않는다.

졸겔 공정으로 합성된 청색 형광 실리카 나노입자의 크기에 따른 PL 특성을 형광 분석 형광법으로 조사하였 고, 그 결과를 Fig. 4에 나타내었다. Fig. 2 (b)에서 관찰 할 수 있는 것처럼, 실리카 나노입자의 크기가 작아질수 록 PL 강도가 우수한 것을 확인할 수 있다. 특히 PL의 최대 강도는 실리카 나노입자의 크기 140 nm, 190 nm, 240 nm 각각에 대하여 파장 418 nm, 425 nm, 425 nm인 것으로 확인할 수 있다. 즉 청색 형광 실리카 나노 입자의 크기가 변해도 형광 색깔은 크게 변하지 않는 것 을 알 수 있다. 또한 청색 형광 실리카 나노입자의 크기 가 작아질수록 PL 강도가 증가하는 것은 하소공정에서 APTES 층에 있는 NH₂ 기능기가 실리카 매트릭스의 산 소 결함과 더 높은 비율로 결합할 수 있기 때문인 것으로 판단된다. 즉 나노입자의 크기가 작을수록 표면적이 커지 고 높은 표면적비를 가질수록 산소결함과 APTES의 NH₂ 기능기가 결합할 확률이 높아지기 때문에 PL 강도가 증 가하는 것이다.

4. 결론

본 연구에서는 졸겔 공정으로 크기가 다른 실리카 나 노입자를 합성하였고, 졸겔 공정 중에 APTES를 첨가하 여 청색 형광 특성이 나타나도록 하였다. 특히 실리카 나 노입자의 크기와 청색 형광 특성의 상관성에 대하여 조 사였으며, 연구결과를 다음과 같이 요약할 수 있다.

첫째, 졸겔 공정 중에 APTES가 첨가된 실리카 나노입 자는 모두 동일한 색깔의 청색 형광 특성(최대 PL 강도 파장은 418 nm ~ 425 nm)을 나타내었다.

둘째, 졸겔 공정으로 APTES가 첨가되어 합성된 청색 형광 실리카 나노입자의 크기가 작아질수록 청색 형광 강도가 증가하였다. 이것은 실리카 매트릭스 속의 산소결 함과 APTES 층 속의 NH₂ 기능기가 결합되는 확률이 증 가하기 때문인 것으로 판단된다.

셋째, 졸겔 공정으로 APTES가 첨가되어 합성된 실리 카 나노입자에서 하소공정을 거치지 않은 실리카 나노입 자는 청색 형광 특성이 전혀 나타나지 않았다. 이것은 하 소 공정을 통해서만 APTES 층의 NH₂ 기능기와 실리카 매트릭스 내부의 산소 결함이 결합되기 때문인 것으로 추정된다.

이상에서 살펴본 것처럼 졸겔 공정 중에 APTES가 첨 가된 실리카 나노입자는 우수한 청색 형광 특성을 나타 내었으며, 이러한 형광 특성을 이용하여 분자진단검사의 바이오 라벨링 및 바이오 이미징에 활용될 수 있을 것으 로 전망된다.

References

 F. Enrichi, R. Ricco, A. Meneghello, R. Pierobon, F. Marinello, P. Schiavuta "Luminescent dye-doped or rare-earth-doped monodisperse silica nanospheres as efficient labels in DNA microarrays", *Proceeding of SPIE*, Vol. 7393, pp. 73930M-1-73930M-10, 2009. DOI: https://doi.org/10.1117/12.828217

- [2] M. Montalti, L. Prodi, E. Rampazzo, N. Zaccheroni, "Dye-doped silica nanoparticles as luminescent organized systems for nanomedicine", *Chemical Society Reviews*, Vol. 43, pp. 4243-4268, 2014. DOI: https://doi.org/10.1039/c3cs60433k
- [3] G. Canton, R. Ricco, F. Marinello, S. Carmignato, F. Enrichi, "Modified Stöber synthesis of highly luminescent dye-doped silica nanoparticles", *Journal* of Nanoparticle Research, Vol. 13, Issue 9, pp. 4349-4356, 2011. DOI: https://doi.org/10.1007/s11051-011-0382-3
- [4] I. L. Medintz, H. T. Uyeda, E. R. Goldman, H. Mattoussi, "Quantum dot bioconjugates for imaging, labelling and sensing", *Nature Materials*, Vol. 4, pp. 425-446, 2005. DOI: https://doi.org/10.1038/nmat1390
- [5] J. Fölling, S. Polyakova, V. Belov, A. Blaaderen, M. L. Bossi, S. W. Hell, "Synthesis and characterization of photoswitchable fluorescent silica nanoparticles", *Small*, Vol. 4, No. 1, pp. 134-142, 2008. DOI: https://doi.org/10.1002/smll.200700440
- [6] J. Xu, J. Liang, J. Li, W. Yang, "Multicolor dye-doped silica nanoparticles independent of FRET", *Langmuir*, Vol. 26, No. 20, pp. 15722-15725, 2010. DOI: http://doi.org/10.1021/la1028492
- [7] L. Wang, W. Tan, "Multicolor FRET silica nanoparticles by single wavelength excitation", *Nano Letters*, Vol. 6, No. 1, pp. 84-88, 2006.
 DOI: https://doi.org/10.1021/nl052105b
- [8] R. P. Bagwe, C. Yang, L. R. Hilliard, W. Tan, "Optimization of dye-doped silica nanoparticles prepared using a reverse micoemulsion method", *Langmuir*, Vol. 20, pp. 8336-8342, 2004. DOI: http://doi.org/10.1021/la049137j
- [9] H. Ow, D. R. Larson, M. Srivastava, B. A. Baird, W. W. Webb, U. Wiesner, "Bright and stable core-shell fluorescent silica nanoparticles", *Nano Letters*, Vol. 5, No. 1, pp. 113-117, 2005. DOI: http://doi.org/10.1021/nl0482478
- [10] C. D. S. Brites, V. T. Freitas, R. A. S. Ferreira, A. Millan, F. Palacio, L. D. Carlos, "Metal-free highly luminescent silica nanoparticles", *Langmuir*, Vol. 28, pp. 8190-8196, 2012. DOI: http://dx.doi.org/10.1021/la300288j
- [11] A. M. Jakob, T. A. Schmedake, "A noble approach to monodisperse, luminescent silica spheres", *Chemistry* of Materials, Vol. 18, pp. 3173-3175, 2006. DOI: http://doi.org/10.1021/cm060664t

윤 지 희(Ji-Hui Yoon)

[준회원]



- 2013년 3월 : 목원대학교 신소재 화학공학과 입학
- 2019년 2월 : 목원대학교 신소재 화학공학과 (공학사)

〈관심분야〉

바이오 센서, 기능성 나노소재, 바이오 이미징

김 기 출(Ki-Chul Kim)

[종신회원]

- 1993년 2월 : 아주대학교 물리학 과 (이학사)
- 1996년 2월 : 아주대학교 물리학
 과 (이학석사)
- 2002년 2월 : 아주대학교 물리학 과 (이학박사)
- 2002년 4월 ~ 2006년 3월 : 한국전자통신연구원 선임연 구워
- 2008년 3월 ~ 현재 : 목원대학교 신소재화학공학과 교수

〈관심분야〉

에너지 저장소재, 가스센서, 에너지 하베스팅 소재