

센서 응용을 위한 사이클로덱스트린-분자 상호작용의 전기화학적 검출

박민지*,# · 김수연**,# · 배준원*,**,†

*동덕여자대학교 응용화학과, **동덕여자대학교 보건향장대학원
(2018년 4월 7일 접수, 2018년 4월 30일 심사, 2018년 5월 17일 채택)

Study on Electrochemical Detection of Cyclodextrin-molecule Interactions for Sensor Applications

Minji Park*, Sooyeoun Kim**, and Joonwon Bae*,**,†

*Department of Applied Chemistry, Dongduk Women's University, Seongbuk-gu, Seoul 02748, Republic of Korea

**Graduate School of Hygiene and Aesthetic, Dongduk Women's University, Seongbuk-gu, Seoul 02748, Republic of Korea

(Received April 7, 2018; Revised April 30, 2018; Accepted May 17, 2018)

초 록

사이클로덱스트린(cyclodextrin)은 환형다당류(cyclic oligosaccharide) 분자들의 일종으로서, 독성을 거의 지니지 않으며, 다른 분자를 포획할 수 있는 기능을 갖고 있다. 따라서, 이 분자들은 유해물질이나 유독가스를 제거하는데 활용되어 왔다. 본 연구에서는, 이 분자들이 다른 분자를 포획하여 host-guest 화합물을 형성할 수 있다는 점에 착안하여, 이 화합물의 생성 시에 수반되는 전기화학적 변화를 감지하는 방법론을 탐구하고자 한다. 먼저, host-guest 화합물의 형성은 자외선 분광기를 통해서 고찰한다. 사이클로덱스트린의 농도를 바꿔가면서 화합물의 형성을 모니터링한다. 그리고, 실질적인 검출은 금전극에 표면 처리 과정을 거쳐 사이클로덱스트린 분자를 도입하고, 이 전극에 모델분자인 메틸파라벤(methyl paraben)을 도입하여 전기화학적 변화를 감지하는 방식으로 도모하였다. 그 결과, host-guest 화합물 형성 시에 전하의 전이가 일어나고, 이를 전기화학적 측정 방식으로도 검출할 수 있다는 가능성을 실험적으로 보여주었다. 이는 무독성 분자인 사이클로덱스트린의 활용도를 넓힐 수 있는 의미있는 결과로 기대된다.

Abstract

Cyclodextrins are a class of oligosaccharides having an extremely low toxicity, so that they have been used for the formation of host-guest complexes and removal of toxic gases or molecules. In this study, the subtle phenomenon associated with the formation of host-guest complexes between cyclodextrin and toxic molecules (methyl paraben) was experimentally investigated. First, the formation of cyclodextrin-methyl paraben complexes was monitored by UV/Vis spectroscopy as a function of the cyclodextrin concentration. Secondly, the electrochemical measurement was performed with the surface engineered Au electrode having cyclodextrin molecules on the Au substrate. The sensing signal derived from the addition of methyl paraben solution into the Au surface was measured delicately. This study can be informative for future applications such as sensors.

Keywords: Cyclodextrin, Paraben, Host-Guest Complex, Charge Transfer, Electrode

1. 서 론

사이클로덱스트린(cyclodextrin, CD) 분자는 원형다당류(cyclic oligosaccharide) 분자를 통칭하며, 이 중에서 6~8개의 글루코피라노스(glucopyranose) 단량체를 갖는 분자들이 대표적이다. 이 분자들은 특이하게도 분자들의 바깥 부분은 친수성을 띄고 있으며, 분자들의 내부는 소수성을 지니고 있다[1]. 따라서, 이 분자들은 매우 규칙적인 구

조를 지니고 있으며, 물과 같은 극성 용매에 잘 녹고, 내부에 들어온 분자들을 외부로부터 잘 보호하는 장점을 지니고 있다. 더불어, 독성이 매우 낮으며, 내부 공간의 크기가 다양하며, 계면활성제로 활용될 수 있다는 장점도 지니고 있다[2-3]. 그리고, 이 물질은 다른 재료의 내부에서 기공을 형성할 수 있는 기능도 지니고 있어 그 활용도가 매우 높다고 할 수 있다[1].

이러한 사이클로덱스트린의 장점 중에서, 본 연구에서의 다양한 분자들과 host-guest complex를 형성할 수 있는 점에 주목하고자 한다. 사이클로덱스트린 분자의 기공 크기가 1나노미터에서 수 나노미터에 이를 수 있는 관계로 분자량 1,000 이하의 분자를 포획하는 것이 가능한 구조로 되어 있다[4]. 특히, 소수성 분자의 경우 내부의 공간에 들어갈 경우 여러 가지 상호작용들에 의해서 외부로 빠져나오는 과정이 매우 어려워질 수 있다. 따라서, 이 기능을 활용하여 다양한 목적을

† Corresponding Author: Dongduk Women's University, Department of Applied Chemistry, Seongbuk-gu, Seoul 02748, Republic of Korea

They equally contributed to this work.

Tel: +82-2-940-4506 e-mail: joonwonbae@gmail.com, redsox7@dongduk.ac.kr

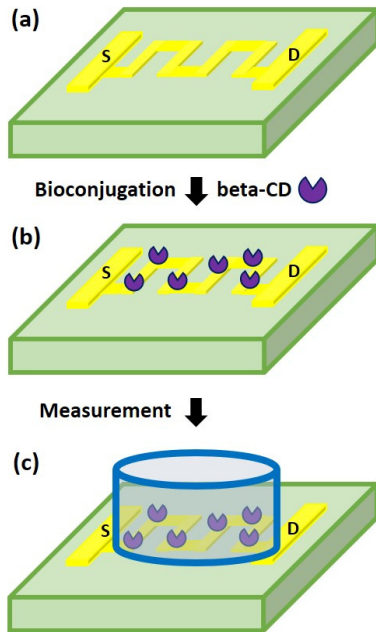


Figure 1. A scheme for fabrication of sensor based on micropatterned Au electrode functionalized with beta-CD.

추구하는 여러 가지 연구들이 행해져 왔다[5]. 예를 들어, 사이클로덱스트린 분자가 냄새 분자를 포획하는 방식을 활용하여 냄새제거제로 활용할 수도 있다. 자연계에 존재하는 다양한 유해 분자를 포획하여 제거하는 것도 당연히 가능할 것으로 판단된다.

본 연구에서는, 사이클로덱스트린 분자가 다양한 종류의 유해성 분자들을 포획할 수 있는 것에 착안하여, 이 과정을 전기화학적으로 모니터링하여 신호를 얻을 수 있는지에 관하여 연구하고자 한다. 이 연구는 향후 연구의 어려움을 덜어줄 수 있는 매우 의미 있는 실험이지만, 실험 수행 상에 여러 가지 제약 사항이 존재하는 것으로 알려져 있다. 먼저, host-guest complex를 형성하는 분자들 간의 charge interaction 또는 charge transfer 정도가 매우 약하다는 점이 있다[6]. 그리고, 용액 상에서 실험을 수행해야 하는 관계로 얻고자 하는 signal에 비해 noise가 매우 클 가능성이 높다[7]. 이러한 전체 아래에서 이루어진 기존의 연구 사례를 몇 가지 찾아볼 수 있다. 일례로, 계산을 이용하여 베타-사이클로덱스트린과 파라벤의 결합 산물에 대해 분석한 연구가 존재한다[5]. 분광학을 이용하여 사이클로덱스트린-파라벤 화합물의 특징에 대해 분석한 사례도 존재한다[8]. 금전극에 사이클로덱스트린 분자를 도입하고, 화합물을 도입하였을 때 일어나는 현상을 전기화학 셀을 이용하여 분석한 이전 연구도 보고되어 있다[9].

그러나, 본 연구에서는 좀 더 직접적인 관찰과 분석을 추구하는 방법론의 일환으로, 분광학적 방법을 활용하여 사이클로덱스트린과 모델 분자인 메틸 파라벤(methyl paraben, MePRB) 사이의 host-guest complex의 형성 여부를 분석하였다. 나아가, Au 전극에 간단한 표면 화학 개질 방법을 활용하여 cyclodextrin 분자를 공유결합 형태로 도입하여 전기화학적 분석을 시도하였다. 이 두 가지 방식을 결합하여, 사이클로덱스트린-메틸파라벤 complex 형성 시에 개입되는 전하의 이동 및 conductance의 변화를 전기적 신호로 도출해 낼 수 있는 가능성에 접근하고자 하였다. 연구의 목적이 성공적으로 달성될 경우, 유해 물질의 존재 여부를 판정할 수 있는 효과적인 방법론으로 응용될 수 있는 가치가 클 것으로 기대된다.

2. 실험

2.1. 재료

베타-사이클로덱스트린(beta-CD)과 포획 모델 분자인 메틸 파라벤은 알드리치(Aldrich, USA)사에서 구매하여 추가적인 정제과정 없이 사용하였다. 표면 개질을 위해 시스테인(cysteamine), 클로로부틸산(chlorobutyric acid, CA) 에틸디메틸아미노프로필 카보디이미드(ethyl(dimethylaminopropyl) carbodiimide, EDC) 및 하이드록시석신이미드(N-hydroxysuccinimide, NHS)도 알드리치(Aldrich, USA)사에서 구매하여 추가적인 정제과정 없이 사용하였다. 전기측정을 위한 금전극은 간단한 광리소그래피법으로 제조하였다. 용매인 에탄올(ethanol)은 삼천화학(서울, 대한민국)에서 구매하여 사용하였다. 전기측정을 수월하게 수행하기 위해 유리관을 사용하였다.

2.2. 금전극 표면처리

전형적인 광리소그래피법으로 제작된 금전극(Figure 1)의 표면에 베타-사이클로덱스트린을 도입하기 위해 간단한 바이오컨쥬게이션(bioconjugation) 방식을 사용하였다. 먼저 금전극을 cysteamine 에탄올 용액(1 mM)에 담겨서 12 h 동안 처리한다. 이 전극을 클로로부틸산 용액(50 mM)에 수 시간 처리해서 활성 산그룹을 도입한 후, 잘 알려진 EDC/NHS 커플링 방식을 사용하여 베타-사이클로덱스트린을 공유결합 형식으로 도입할 수 있는 관능기를 부여한다. 이어서, 베타-사이클로덱스트린(5 mM)을 수산화칼륨 수용액(3 M, 10 mL)과 함께 전극에 도입한다[7].

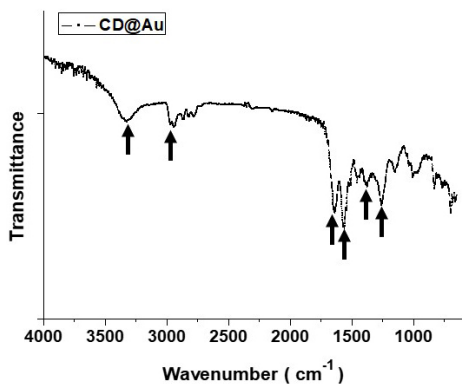
2.3. 측정 및 분석

자외선 분광 스펙트럼은 Shimadzu UV 1200 분광기를 통해 얻어졌다. 적외선 분광 스펙트럼은 Perkin Elmer Spectrum One 분광기를 이용하여 얻었다. 전기적 측정은 Keithley 2612B 소스미터와 probe station (MS Tech, Model 4000)을 활용하여 실시하였다. 이때, 전기적 전류 신호의 변화를 초기 전류값과 비교하여 제시하였다. 용액에 대한 전기 측정을 가능하게 하기 위하여, 용액용 유리관을 이용하였다(Figure 1).

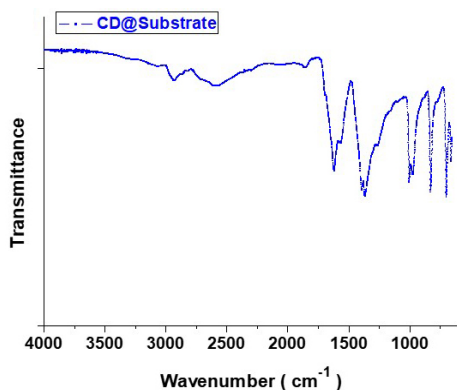
3. 결과 및 고찰

본 실험을 수행하기 위하여 필요한 전극은 실험 파트에서 설명한 대로 Figure 1과 같이 제조되었다. 먼저 통상적인 리소그래피(lithography) 방식으로 제조된 금 미세 전극(micropatterned electrode)을 출발점으로 활용하였다. 표면을 물, 에탄올, 아세톤으로 세척한 후 잘 알려진 간단한 bio-conjugation 반응을 통해서 host 분자인 beta-CD를 도입하고, 센서 측정을 효과적이고 안정적으로 진행하기 위해서 유리관을 활용한다.

현재까지, beta-CD를 host 물질로 활용하여 다양한 guest 분자를 검출하는 시도는 비교적 다양한 방식으로 진행되어 온 것이 사실이다. 기존의 방식을 예를 들어 보면, 이들은 주로 정전기적(electrostatic) interaction 또는 수소 결합 등의 특이적(specific) interaction을 활용하여 시도되어 왔다. 이 두 경우는 모두 guest 물질이 host에 다가올 때 전기적인 성질이 변화하는 것을 감지하는 방식으로 이루어져 왔다. 먼저, 전기적인 charge 밀도가 낮은 guest 물질이 host에 다가오면 guest 물질이 저항으로 작용을 하여 host-guest 물질의 전체적인 전하의 밀도가 낮아지게 된다. 이 경우에는, 전기적 신호(전류)의 크기가 감소하



(a)

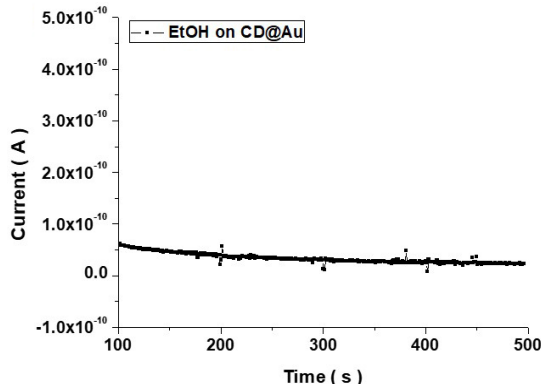


(b)

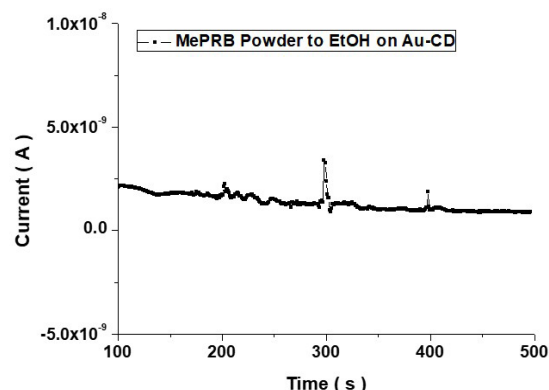
Figure 2. FT-IR spectra of micropatterned Au electrode functionalized with beta-CD: (a) Au and (b) glass area.

는 것을 감지하여 guest 물질의 유입 및 존재를 감지하는 것이 가능해진다[7]. 한편으로, 전기적인 charge의 밀도가 높은 물질이 guest로 다가오거나 또는 host-guest 물질이 형성됨으로 인해서 두 물질 간의 전기적인 charge의 전달이 촉진되는 경우에는 전기적 신호(전류)가 증가하거나 전도성(conductance)이 증가하게 된다[10]. 두 번째 케이스의 후자는 감지가 상대적으로 까다롭고 실험적인 변수에 의해서 noise의 형성이 증가하기 때문에 정확한 판단을 하기가 다소 어렵다는 단점이 존재한다. 그렇지만, 본 연구에서는, 좀 더 감도가 높고 선택적인 물질 감지를 추구하기 위해서 보다 직접적인 감지 방식을 시도하고자 한다. 이를 위해서는 무엇보다, host-guest interaction molecule이 형성될 때 발생하는 전기적 신호(전류) 및 conductance의 변화를 가시적으로 보여주는 것이 관건이다. 이는 현재까지는 전기화학분석(electrochemical analysis) 및 감지 방식으로 많이 이루어져 왔으나, 본 연구에서는 보다 직접적인 전기적(electrical) 측정 방식을 시도해 보도록 한다.

가장 먼저 확인해야 할 점은, 금전극의 표면에 beta-CD가 정확하게 도입이 되어 있는지를 판단하는 것이다. 본 연구에서 사용된 bio-conjugation 반응의 신뢰도는 확보되어 있으나, 이를 한 번 더 확인하는 것이 필요하다. 따라서, 적외선 분광 스펙트럼을 분석하여 beta-CD 분자가 host 물질로 도입되어 있는지 판단하고자 하였다. Figure 2에서는 두 가지 적외선 분광 스펙트럼을 보여주고 있는데, 먼저 금전극이 존재하지 영역에 도입된 케이스와 금전극이 존재하지 않는 영역에 도입된 케이스를 비교하여 보여주고 있다. Figure 2(a)에서 보듯이 beta-CD가 도입되면 무엇보다 3,300파수(wavenumber)영역의 OH 그룹의 대



(a)



(b)

Figure 3. Signal profiles of the sensor obtained after introduction of the analyte solution: (a) EtOH and (b) Methyl paraben in EtOH.

칭 스트레칭 피크가 우측과 비교하여 두드러지게 나타나는 것을 볼 수 있다. 더불어, 3,000파수 영역의 CH 그룹 대칭 스트레칭 피크, 1,600, 1,550, 1,370파수 영역의 C-O-C bending 피크들이 명확하게 나타남을 알 수 있다. 이들 중 일부 피크는 아래 스펙트럼에서도 나타나는 것이 보이고 있는데, 이는 금전극이 존재하지 않는 부분에서도 bio-conjugation 반응이 다소 일어나는 것을 의미한다. 특히, 위에서 명시한 파수들에서 나타나는 피크의 크기들은 위에서 낮게 나타나는 것이 보이고 있는데, 이는 금 표면에 반사되는 적외선의 portion이 크기 때문이다. 또한, 위에서는 아래에 비해 유리의 성분이 되는 siloxane에 의한 피크가 다소 두드러지게 나타나는 것이 보이고 있다. 이 사실들을 통해, 금전극 표면에 host 물질인 beta-CD가 효율적으로 도입되어 있음을 알 수 있다[9]. 정량적인 분석과 도입되는 guest 물질의 양을 알기 위해서는 표면적당 도입된 beta-CD의 양을 구하는 것이 이상적이거나, 본 실험에서는 동일한 조건에서 반응이 이루어졌고, 신호의 유무를 판단하는 것이 목적이므로 위의 과정은 생략하기로 한다.

이제는 본격적으로 beta-CD가 도입된 금전극에 분석 물질을 도입해 보기로 한다. 먼저, beta-CD가 처리된 금전극 표면에 유리관을 세운 후 두 가지 용액, 즉 용매만으로 이루어진 것과 분석물질이 용매에 녹아 있는 것을 차례로 전극에 맞닿게 하여 전기 신호의 존재 유무를 검사해 보았다. 이를 보다 정확하게 실험하기 위해서는 beta-CD를 도입하지 않은 금전극과 beta-CD를 도입한 금전극 두 가지 전극에 대해서 동일하게 실험해야 한다. 다만, beta-CD가 도입된 금전극을 활용한 실험에서 필요한 정보를 모두 도출할 수 있었다. Figure 3(a)에서 보듯

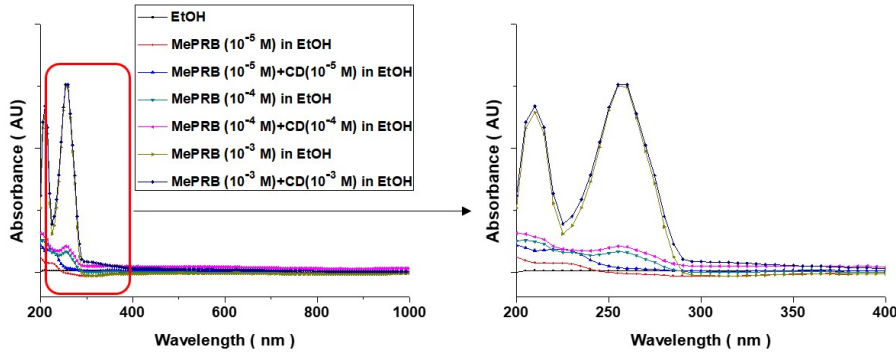


Figure 4. UV/Vis spectra of beta-CD/analyte solutions as a function of both molecules.

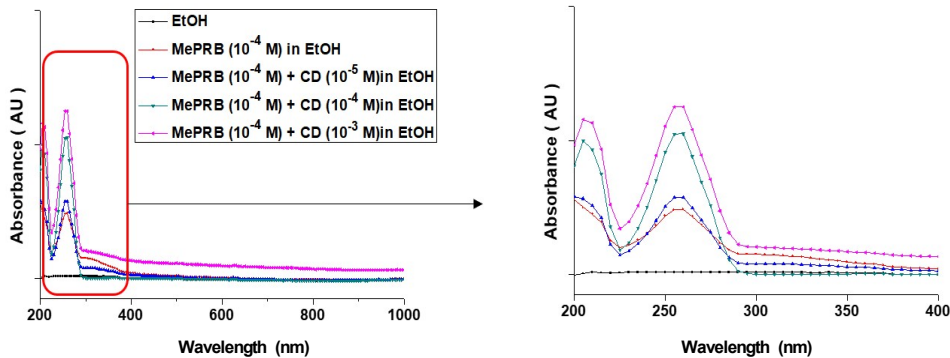


Figure 5. UV/Vis spectra of beta-CD/analyte solutions as a function of beta-CD molecule.

이 beta-CD가 도입된 금전극에 용매인 에탄올만을 도입하였을 때는 두드러진 신호(electrical signal)가 나타나지 않는 것을 볼 수 있다. 다만, 에탄올 분자도 약한 쌍극자(dipole moment)를 지니고 있는 극성 분자이며, host-guest 물질이 형성되었을 때 다소 간의 전하 전달이 이루어질 수 있으므로, 군데군데 약한 전기 신호가 드러나고 있다. 반면에, Figure 3의 아래에서는 에탄올을 용매 속에 분석물질인 메틸파라벤 분자(methyl paraben)가 녹아 있는 용액을 beta-CD가 도입된 금전극 위에 도입하였을 때 얻어지는 전기 신호를 나타내고 있다. Figure 3(a)와는 다르게, 전기적 신호가 보다 명확하게 관찰되고 있다.

나아가, 전류변화량도 좌측과 비교하였을 때 매우 큰 값을 보여주고 있다. 이 사실은 host-guest 물질이 형성되었을 때 전기적 성질의 향상이 두드러짐을 의미하고 있다. 부가적으로, 동일한 두 가지 용액을 beta-CD가 도입되지 않은 금전극 위에서 측정해 보았을 때, Figure 3(b)와 유사한 형태가 일어났다.

본 실험에서 도모한 측정방식은 직접적인 측정 방식이나, 다양한 환경적인 변수에 의해서 신호의 발생 여부나 발생된 신호의 크기가 영향을 받는 단점이 있다. 이를 보완하기 위해서는 분광학적인 방법을 통해서 추가적인 확인을 할 필요가 있다. 따라서 자외선 분광학을 이용하여, beta-CD/guest 물질이 형성되었을 때 어떠한 스펙트럼 상의 변화가 나타나는지를 고찰하였다. 먼저 Figure 4에서는 host인 beta-CD의 농도를 바꾸고 이와 함께 guest 물질인 메틸파라벤의 농도를 함께 바꾸어서 스펙트럼의 변화 양상을 고찰하였다. 모든 파라벤 농도 케이스에서 같은 양의 beta-CD가 존재할 경우, 자외선 영역에서의 UV 흡광도가 다소간 증가하는 것을 볼 수 있다. 이는, host-guest 물질의 형성에 의한 영향이라고 고려할 수 있다. 1 mM 이상의 농도에서는 이 경향이 나타나는 것을 이론적으로 보고한 사례가 있으나[11], 더욱 낮

은 농도에서도 이러한 경향이 지속되는 것을 확인한 것은 의미 있다.

다른 한편으로, 분석물질의 농도는 고정하고, beta-CD의 농도를 바꾸어 가면서 자외선 흡광도의 변화 형상을 분석하였다. Figure 5에서 볼 수 있는 바와 같이, 일정한 guest 분자의 농도 하에서 host의 농도가 증가하였을 때, 청색 가시광에 가까운 영역에 존재하는 자외선의 흡광도가 상당히 눈에 띄게 증가하는 양태를 보이고 있다. 이는 두 물질간의 interaction에 의해서 전기적인 신호 또는 conductance가 증가하고 있음을 나타내는 또 다른 증거가 될 수 있다.

이 실험에서 보여준 몇 가지 실험을 통해서, beta-CD/analyte로 이루어진 host-guest 물질의 형성 시에 전기적인 전하밀도 또는 conductance의 증가를 유도할 수 있고, 이를 통해서 유입물질의 감지가 전기적으로 가능하다는 것을 뒷받침하고 있다. 다만, 본 실험에서 도입한 방법은 전기적 신호가 표적물질의 농도에 비례한다는 장점이 있고 민감도는 준수하다는 특징을 지니고 있으나, CD 분자의 특성상 높은 수준의 선택성을 가지기는 어려운 단점이 있다. 이는 CD 분자가 어느 정도의 크기 또는 분자량을 갖는 분자들을 대부분 포집할 수 있기 때문이다. 따라서, 전기적 신호의 농도에 대한 반응성은 이전 논문에서 정보를 찾을 수 있다[7].

본 연구는 기초적인 현상에 대해서 살펴보는 연구이나, CD 분자가 다양한 종류의 분자들을 포획할 수 있는 가능성이 있고 이를 전기적으로 검출할 수 있다는 것을 제시하였으므로 필요한 전극을 도입하여 약취유발 분자들을 제거할 수 있는 전자식/회로식 탈취제로 활용될 수 있는 가능성이 있다.

4. 결 론

본 실험에서는, 마이크로패턴된 금전극에 beta-CD를 도입하여 분석물질을 guest분자 형태로 도입하여 직접적이고 전기적인 신호를 통해 감지할 수 있는지에 대해서 고찰해 보았다. 결론적으로, beta-CD/analyte의 배타적인 상호작용을 전기적인 측정 방식과 자외선 분광학을 통해서 확인하였고, 이를 바탕으로 현재의 기법이 센서에 활용될 수 있음을 알 수 있었다. 이는 감지 매체와 분석 물질의 상호 작용을 가시적으로 분석하고 판단할 수 있으므로 매우 효과적일 것으로 기대된다. 본 연구는 향후 보다 감도가 좋고 선택성과 신뢰도가 높은 센서의 제작에 활용될 수 있을 것으로 기대된다. 또한, beta-CD를 포함한 다양한 형태의 무독성, 친환경성 전분 분자들을 다양한 센서에 활용하는 데 기여할 것으로 기대된다.

감 사

본 연구에 대한 재정 지원은 교육부 주관인 한국연구재단의 이공계 인기초연구 지원사업을 통해서 이루어졌습니다(NRF-2016R1D1A1B03934440).

References

1. J. Jang and J. Bae, Selective fabrication of polymer nanocapsules and nanotubes using cyclodextrin as a nanoporogen, *Macromol. Rapid Commun.*, **26**, 1320-1324 (2005).
2. J. Zhang, Y. Li, M. Bao, X. Yang, and Z. Wang, Facile fabrication of cyclodextrin-modified magnetic particles for effective demulsification from various types of emulsions, *Environ. Sci. Technol.*, **50**, 8809-8816 (2016).
3. R. Zhang, L. Li, J. Feng, L. Tong, Q. Wang, and B. Tang, Versatile triggered release of multiple molecules from cyclodextrin-modified gold-gated mesoporous silica nanocontainers, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **6**, 9932-9936 (2014).
4. D. Bogdan, Electronic structure and driving forces in α -cyclodextrin:butylparaben inclusion complexes, *Phys. Lett. A*, **372**, 4257-4262 (2008).
5. M. Fatiha, L. Leila, N. Leila, and K. D. Eddine, Computational study on the encapsulation of ethylparaben into β -cyclodextrin, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **76**, 379-384 (2013).
6. L. Liu, K. S. Song, X. S. Li, and Q. X. Guo, Charge-transfer interaction: A driving force for cyclodextrin inclusion complexation, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **40**, 35-39 (2001).
7. Y. Hwang, J. Y. Park, C. -S. Lee, O. S. Kwon, S. H. Park, and J. Bae, Surface engineered poly(dimethylsiloxane)/carbon nanotube nanocomposite pad as a flexible platform for chemical sensors, *Composites A*, **107**, 55-60 (2018).
8. H. M. Heise, R. Kuckuk, A. Bereck, and D. Riegel, Infrared spectroscopy and Raman spectroscopy of cyclodextrin derivatives and their ferrocene inclusion complexes, *Vib. Spectrosc.*, **53**, 19-23 (2010).
9. J. H. Yang, H. T. Kim, and H. Kim, A cyclodextrin-based approach for selective detection of catecholamine hormone mixtures, *Micro Nano Syst. Lett.*, **2**, 1-10 (2014).
10. S. Asman, S. Mohamad, and N. M. Sarih, Exploiting β -cyclodextrin in molecular imprinting for achieving recognition of benzylparaben in aqueous media, *Int. J. Mol. Sci.*, **16**, 3656-3676 (2015).
11. M. J. Jenita, J. Thulasidhasan, and N. Rajendiran, Encapsulation of alkylparabens with natural and modified α and β -cyclodextrins, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **79**, 365-381 (2014).