

# 크산틴의 전기화학적 검출을 위한 바이오-나노 하이브리드 복합전극 기반의 효소 바이오센서

권나윤 · 이창석\*  
서울여자대학교 화학과

(2025년 8월 30일 접수 : 2025년 9월 24일 수정 : 2025년 9월 24일 채택)

## Advanced Enzymatic Biosensor Utilizing a Bio-nanohybrid Composite Electrode for the Electrochemical Detection of Xanthine

Nayoon Kwon and Chang-Seuk Lee\*

Department of Chemistry, Seoul Women's University, Seoul, Republic of Korea, 01797

(Received August 30, 2025 : Revised September 24, 2025 : Accepted September 24, 2025)

### 초 록

크산틴(Xanthine)은 퓨린 대사의 중간체로, 하이포잔틴의 산화로 합성되며, 이후 요산으로 전환된다. 체내 크산틴 농도의 증가는 통풍, 황색뇨증, 신장 결석 등과 같은 대사 질환과 밀접한 관계를 가진다. 따라서, 크산틴 농도의 측정은 퓨린 대사 장애, 신장 기능 평가, 산화 스트레스 평가 등에 바이오마커로 활용될 수 있다. 크산틴의 정량적 분석을 위해, 분광학적 방법, 크로마토그래피, 전기화학적 분석 등 다양한 방법이 개발되어왔다. 특별히, 전기화학적 분석법은 빠르고 간편할 뿐만 아니라, 비표지/비파괴 방식으로 측정할 수 있다는 장점을 갖고 있다. 본 연구에서는 크산틴 산화효소와 환원된 산화-그래핀/백금 나노입자의 바이오-나노 하이브리드 복합 전극을 사용하여 크산틴을 정량분석하고자 하였다. 최종적으로 제작된 바이오-나노 하이브리드 전극 기반의 크산틴 센서는 넓은 선형범위에서 크산틴의 농도를 정량적으로 측정할 수 있었다.

**Abstract :** Xanthine is an intermediate in purine metabolism, synthesized through the oxidation of hypoxanthine and subsequently converted to uric acid. Elevated levels of xanthine in the body are closely associated with various metabolic disorders, such as gout, xanthinuria, and kidney stone. Therefore, the measurement of xanthine concentrations can serve as a valuable biomarker for assessing purine metabolic disorders, evaluating renal function, and monitoring oxidative stress. Various analytical methods, including spectroscopic techniques, chromatography, and electrochemical analysis, have been developed for the quantitative determination of xanthine. In particular, electrochemical methods offer advantages such as rapid analysis, simplicity, label-free, and non-destructive detection. In this study, we aimed to quantitatively analyze xanthine using a bio-nano hybrid composite electrode composed of xanthine oxidase and reduced graphene oxide/platinum nanoparticles. Finally, the developed bio-nano hybrid electrode-based xanthine sensor successfully achieved quantitative detection of xanthine over a wide linear range.

**Keywords :** Xanthine, Electrochemistry, Bio-nanohybrid composite, Graphene, Metal nanoparticles

\*E-mail: cslee.chem@swu.ac.kr

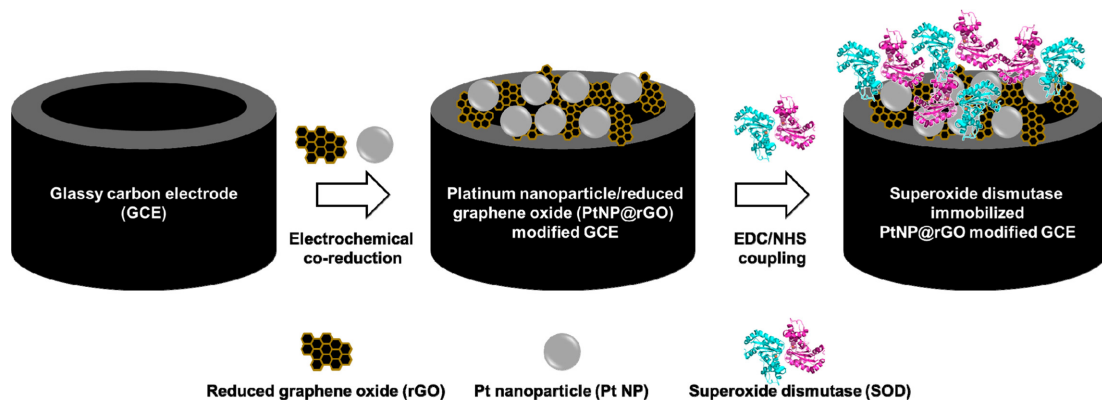
## 1. 서 론

크산틴(Xanthine)은 하이포잔틴의 산화를 통해 생성되며, 이후 크산틴 산화효소에 의해 요산으로 전환되는 퓨린 대사의 중요한 중간체이다.<sup>1)</sup> 정상적인 생리 조건에서 크산틴의 농도는 효소적 조절에 의해 매우 낮은 수준으로 유지되지만, 대사 경로의 이상이나 효소 활성의 변화로 인해 체내에 과도하게 축적될 경우, 통풍, 황색뇨증, 신장 결석과 같은 다양한 대사 질환과 밀접한 연관이 있다.<sup>2)</sup> 이러한 질환들은 적절한 진단과 관리를 받지 않을 경우 심각한 합병증을 초래할 수 있기 때문에, 크산틴의 농도를 정밀하게 측정하고 모니터링하는 것은 매우 중요하다. 또한, 크산틴과 크산틴 산화효소는 활성산소종(Reactive Oxygen Species, ROS) 생성과 밀접하게 관련되어 있어, 산화 스트레스 및 이와 연관된 심혈관 질환, 신경퇴행성 질환, 암 등의 병리학적 기전을 이해하는 데 핵심적인 역할을 한다.<sup>3)</sup> 더 나아가, 식품 산업 분야에서는 육류 및 어패류의 신선도 평가를 위해 크산틴이 품질 지표로 활용되기도 하여, 다양한 분야에서 크산틴의 민감하고 정확한 분석법 개발에 대한 필요성이 지속적으로 증가하고 있다.<sup>4,5)</sup>

크산틴의 정량적 분석을 위해 현재까지 다양한 분석 기술들이 개발되어 왔다. 가장 널리 사용되는 방법인 분광학적 분석은 간단하고 빠르다는 장점을 가지고 있으나, 선택성이 낮아 복잡한 생체 시료나 식품 시료 내에서 간섭 물질에 의한 오차가 발생할 가능성이 크다는 한계가 있다. 크로마토그래피 기반 분석법은 높은 분리 능력과 정확도를 제공하지만, 분석 과정이 복잡하고 고가의 장비와 숙련된 기술자가 필요하다는 점에서 실시간 분석이나 현장 측정에는 적합하지 않다.<sup>6)</sup> 질량분석법 또한 우수한 감도와 특이성을

갖추고 있으나, 시료 전처리 과정이 까다롭고 비용이 많이 소요되며, 장비의 유지 및 관리에 상당한 자원이 필요하다.<sup>7)</sup> 이러한 전통적인 분석법들의 한계를 극복하고자 최근에는 전기화학적 분석법을 이용한 크산틴 측정 기술이 주목받고 있다. 전기화학적 분석법은 빠르고 간편할 뿐만 아니라, 상대적으로 저렴한 비용과 소형화가 가능하다는 장점을 갖고 있어 휴대형 센서나 현장 진단 기기로의 응용 가능성이 매우 높다.<sup>8)</sup> 또한, 전기화학적 센서는 비표지(label-free) 및 비파괴(non-destructive) 방식으로 분석이 가능하며, 높은 민감도와 넓은 동적 범위를 제공할 수 있다. 이러한 특징 덕분에 혈액, 소변, 식품 추출물 등 다양한 실제 시료에서 크산틴의 직접적인 검출과 정량 분석이 가능하다. 따라서, 전기화학적 분석법은 기존 분석법의 한계를 보완하여, 신속하고 정확한 크산틴 센서를 개발하는 데에 적합한 기술로 각광받고 있다.

그러나 전기화학적 분석법이 다양한 장점을 지니고 있음에도 불구하고, 실제 생체 시료 내에서 크산틴을 직접적으로 검출할 때는 여전히 선택성과 감도 측면에서 한계가 존재한다.<sup>9)</sup> 생체 시료에는 다양한 전기활성 물질들이 복합적으로 존재하여 분석 신호에 간섭을 일으키고, 측정의 정확도와 재현성을 저해할 수 있다. 이러한 문제를 극복하기 위해 전극의 표면 특성과 기능을 개선하여 분석 대상 물질에 대한 선택성을 높이는 전략이 필요하다. 본 연구에서는 이러한 한계를 극복하기 위해 환원된-산화 그래핀(reduced graphene oxide, rGO)과 백금 나노입자(Platinum nanoparticles, PtNPs)를 복합적으로 사용한 하이브리드 전극을 개발하였다. rGO는 넓은 비표면적과 함께 가장자리 평면(edge plane)이 다수 형성되어 있어, 높은 효소 로딩을 가능하게 하고 표면 반응성을 향상시키는 데 유리하다. 또한, 풍부한 산소 함유 작용기(-OH, -COOH 등)



Scheme 1. Schematic diagram for the fabrication of PtNP@rGO nanohybrid composite electrode decorated with SOD.

를 통해 생체 분자, 특히 크산틴 산화효소와 같은 효소를 전극 표면에 효과적으로 고정화할 수 있다. PtNPs는 뛰어난 촉매 활성화와 전자전달 능력을 제공하여 전극 반응의 민감도를 크게 향상시킨다.<sup>10)</sup> 이러한 복합체 전극은 표면적 확대와 전자전달 경로의 최적화를 동시에 달성함으로써, 크산틴을 높은 선택성과 감도로 측정할 수 있도록 설계되었다.

본 연구에서는 PtNP@rGO 나노복합체 전극과 크산틴 산화효소, 초과산화물 디스뮤타아제(superoxide dismutase, SOD)를 활용하여 크산틴을 전기화학적으로 측정할 수 있는 센서를 개발하였다(Scheme 1). PtNP@rGO 나노복합체 전극은 전기화학적 방법을 통해 빠르고 손쉽게 제작되었으며, 주사전자현미경(SEM)과 전기화학적 분석을 통해 그 구조적 및 전기화학적 특성을 평가하였다. 또한, 크산틴 산화효소와 SOD라는 두 가지 효소를 조합한 측정 메커니즘을 연구함으로써, 다소 복잡하지만 매우 높은 선택성을 갖는 센서를 구현할 수 있었다. 최종적으로 제작된 센서는 넓은 선형 범위 내에서 크산틴을 성공적으로 정량 분석할 수 있었으며, 후속 연구를 통해 더욱 향상된 정밀도와 신뢰성을 갖춘 센서로 발전할 가능성을 확인하였다.

## 2. 실험

### 2.1. PtNP@rGO -하이브리드 전극 제작

PtNP@rGO 하이브리드 전극은 다음과 같은 공정을 통해 제작된다. 먼저, 흑연 분말을 이용하여 개선된-Hummers 방법으로 그래핀 산화물(Graphene oxide, GO)을 합성하였다. 합성된 GO는 탈이온수(DI water)에 1.0 mg/mL 농도로 분산시킨 후, 1시간 동안 초음파 처리하였다. 유리질 탄소전극(Glassy carbon electrode, GCE)은 1.0, 0.3, 0.05  $\mu\text{m}$  크기의 알루미늄 분말로 연마한 뒤, 에탄올과 탈이온수를 1:1(v/v) 비율로 혼합한 용액에서 10분간 초음파 세척하였다. 이후 GCE는 0.25 M 황산( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 용액에서 순환 전압전류법(Cyclic voltammetry, CV)을 이용하여 전기화학적으로 세척하였으며, -1.0~1.0 V (vs. Ag/AgCl)까지 50 mV/s의 스캔 속도로 20회 전위 사이클링을 수행하였다. PtNP@rGO 나노복합체의 전극 증착은 10 mM 인산염 완충 용액(PBS)에 0.4 mg/mL의  $\text{H}_2\text{PtCl}_6$ 와 0.2 mg/mL의 GO를 포함한 전해질에서 -1.5~-0.8 V (vs. Ag/AgCl)까지 10 mV/s의 스캔 속도로 5회 전위 사이클링을 수행하여 이루어졌다. 전극 증착 후 PtNP@rGO 수정된 GCE는 탈이온수로 세척한 뒤 적외선(IR) 램프 하에서 건조시켜 PtNP@rGO 나노복합체와 GCE 표면 간의 부착력을 향상시켰다. 제작된 센서의 표면 특성을 평가하기 위해 SEM으로

분석하였다.

### 2.2. 전기화학적 측정 실험 방법

전기화학적 측정은 전통적인 3전극셀(작업전극, 기준전극, 상대전극)을 사용했으며, PtNP@rGO 나노복합체 전극을 작업전극, Ag/AgCl을 기준전극, Pt wire를 상대전극으로 사용했다. 모든 전기화학 실험에서 10 mM PBS (pH 7.4) 용액을 지지전해질로 사용했다. SOD는 EDC/NHS 촉매 하에 펩타이드 결합을 이용하여 PtNP@rGO 나노복합체 전극에 고정하였다. 먼저, 10 mM N-Ethyl-N'-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDC) 2  $\mu\text{L}$ 와 10 mM N-Hydroxysuccinimide (NHS) 2  $\mu\text{L}$ 를 섞은 수용액으로 PtNP@rGO 나노복합체 전극 표면을 덮어 drop casting을 진행한다. 이때, EDC/NHS 촉매를 포함하는 물방울이 마르지 않도록 습식 챔버 안에서 실험을 진행한다. 1 시간 incubation 이후, 탈이온수로 전극 표면을 세척하고, 초고순도 질소 (99.999%  $\text{N}_2$  gas)로 전극을 건조한다. 다음으로, 1 kU/mL 농도의 SOD 10  $\mu\text{L}$ 를 PtNP@rGO 나노복합체 전극 표면에 drop casting 하고, 2시간 incubation을 습식 챔버에서 진행한다. 2시간 incubation 이후, 탈이온수와 초고순도 질소로 전극을 세척한다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 바이오나노 하이브리드 전극 제작 및 전기화학적 특성 평가

Fig. 1A의 순환-전압전류법 그래프에 도시된 대로, PtNP@rGO 나노복합체 전극은 5회의 전위 사이클링으로 합성/고정되었다. 이때, -1.5 V (vs. Ag/AgCl)에서 GO의 특징적인 환원 피크가 관찰되었으며, -0.3 V (vs. Ag/AgCl)에서 백금 나노입자의 표면이 환원되는 피크가 관찰되어, PtNP@rGO 전극이 성공적으로 합성되었다는 것을 확인하였다.<sup>11,12)</sup> 이후 주사전자현미경을 이용하여 전극 표면을 관찰한 결과, Fig. 1B에 나타난 대로, 주름진 옷감 형태의 rGO와 작은 입자 형태의 PtNP가 잘 합성되었고, 나노복합체의 형태를 하고 있는 것을 확인하였다. 이를 통해, 순환-전압전류법을 이용한 PtNP@rGO 나노복합체 전극의 제작방법이 연구 수행에 적합한 방법임을 확인하였다.

제작된 PtNP@rGO 나노복합체 전극을 이용한 분석에 앞서, 전극의 전기화학적 특성을 평가하기 위해, 전통적인 전기화학 산화/환원 물질인  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 를 이용하여 전기화학적 특성을 평가하였다. Fig. 2A에 나타난 대로, 5 mM  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 를 bare GCE, PtNP-GCE, rGO-GCE, 그리고 PtNP@rGO-GCE로 측정된 결과, 유리질 탄소전극에 나노입자를 고정할수록, 피

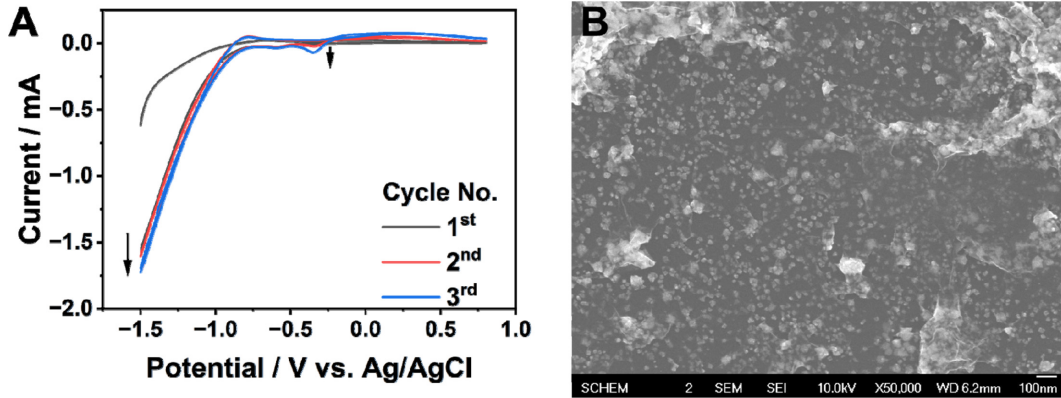


Fig. 1. (A) Electrochemical fabrication of PtNP@rGO hybrid nanocomposite electrode by cyclic voltammetry with GO and Pt ion precursor containing solution. (B) SEM image of PtNP@rGO hybrid nanocomposite electrode.

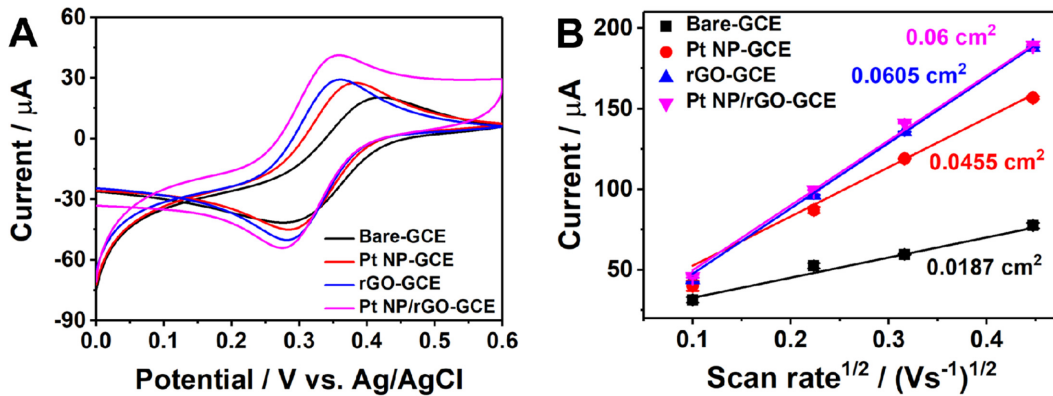


Fig. 2. (A) CV curves recorded on GCE, PtNPs-GCE, rGO-GCE, and PtNP@rGO-GCE in 0.1 M  $\text{KNO}_3$  containing 5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$  at a scan rate of 50 mV/s. (B) Relationship between peak current and the square root of scan rate for oxidation on GCE, PtNPs-GCE, rGO-GCE, and PtNP@rGO-GCE in 0.1 M  $\text{KNO}_3$  containing 5 mM  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ .

크 전류가 커지고, 산화-환원 피크 전위의 차이가 작아지는 것을 확인하였다. 이는 전극 표면에 고정된 나노입자, 또는 나노복합체가 갖는 전기화학적 촉매 효과에 인한 것임을 확인할 수 있다. 나아가, 각 전극에서의 전기화학 활성 표면적(Effective surface area)을 측정하기 위해, 5 mM  $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$  용액에서 서로 다른 주사속도를 이용해 얻어진 산화 피크 전류를 도시하였다. (Fig. 2B) 이 그래프에 Randles-Sevcik 식을 이용하여 전극의 전기화학 활성 표면적을 측정하였다.<sup>13)</sup>

$$i_p = 0.4463nFAC(nFvD/RT)^{1/2}$$

여기서  $i_p$ 는 피크 전류(A),  $n$ 는 전자수,  $F$ 는 패러데이 상수( $9.6485 \times 10^4 \text{ C mol}^{-1}$ ),  $A$ 는 전극표면적

( $0.03162 \text{ cm}^2$ ),  $C$ 는  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ 의 농도(1 mM),  $v$ 는 주사속도( $\text{V s}^{-1}$ ),  $D$ 는 확산계수( $\text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$ ),  $R$ 은 기체 상수  $8.314 \text{ J mol}^{-1}\text{K}^{-1}$ ,  $T$ 는 온도(298.15 K)이다. 그 결과, 나노입자, 또는 나노복합체를 고정할수록, 전기화학 활성 표면적이 커지는 것을 확인하였다. 이를 통해, 전기화학 활성 표면적이 가장 넓은 PtNP@rGO-GCE에서 가장 높은 민감도를 갖는 센서를 제작할 수 있을 것으로 기대하여, 이후 실험에서는 PtNP@rGO 나노복합체 전극을 사용하여 실험을 진행하였다.

### 3.2. SOD 효소 위치에 따른 전자전달 메커니즘 평가

본 연구에서는 초과산화물 디스뮤타아제를 이용하여 크산틴의 산화반응을 통해 생산되는 산소 음이온 라디칼을 환원시키고, 이때, 산화되는 초과산화물 디스뮤타아제 내부의 구리 이온과 아연 이온을 전기화

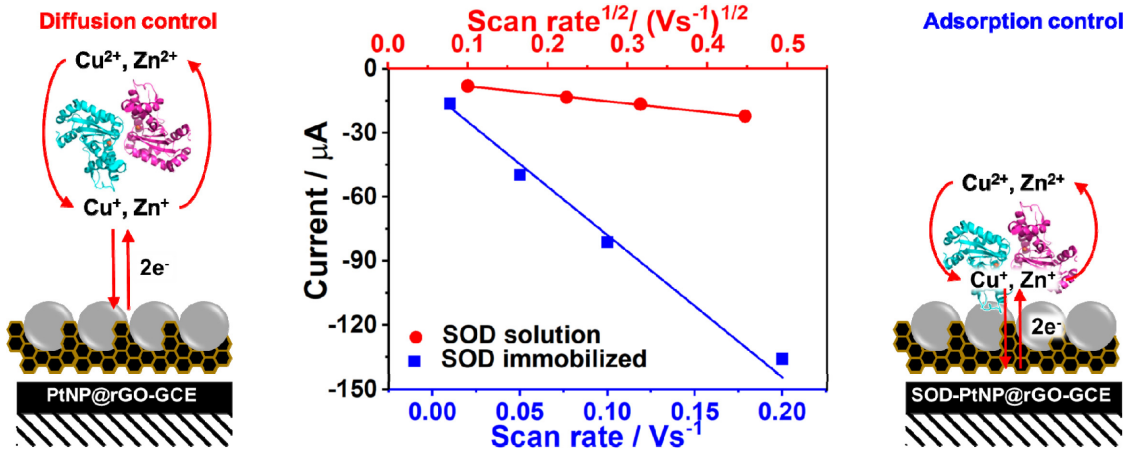


Fig. 3. Relationship between peak current and the square root of scan rate (red), and scan rate (blue) for oxidation on copper ions from SOD in 10 mM PBS containing SOD (red), and immobilized SOD (blue), respectively.

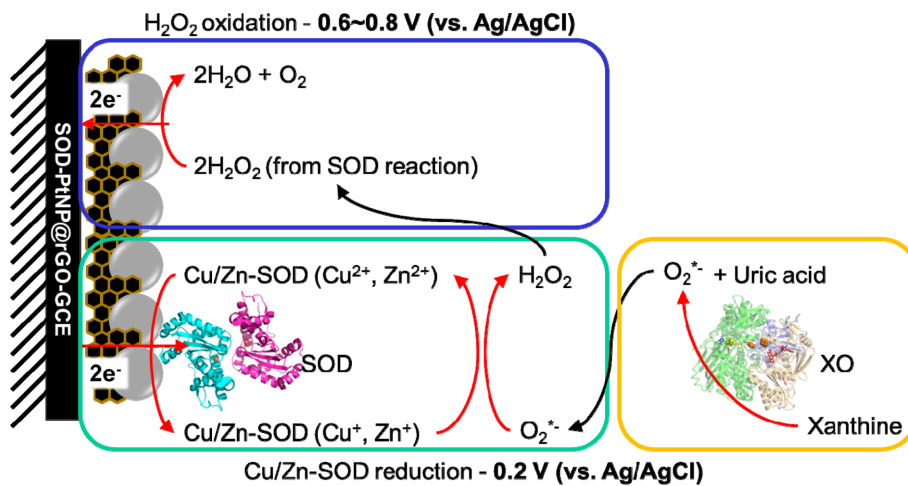


Fig. 4. Electrochemical detection mechanisms for xanthine by using two different enzymatic reactions.

학적으로 환원함으로 크산틴을 측정할 수 있다. 초과산화물 디스무타아제는 용액 중에도 존재할 수 있고, 전극 표면에 고정할 수도 있다. 전기화학적 활성 물질의 전하전달 반응에서 확산에 의한 전류와 흡착된 물질에 의한 전하전달은 주사속도를 달리해가며 측정하는 전기화학 측정법으로 확인할 수 있다. Fig. 3에 나타난 것처럼, 지지전해질에 넣은 초과산화물 디스무타아제 효소 내부에 있는 구리와 아연 이온의 환원 피크 전류는 주사속도의 제곱근에 비례하는 것으로 관찰되었다. 반면에 EDC/NHS 커플링을 이용하여 초과산화물 디스무타아제 효소를 전극 표면에 고정하였을 경우, 구리와 아연 이온의 환원 피크 전류는 주사속도에 비례하는 것으로 확인하였다. 이를 통해 초과산화

물 디스무타아제의 환원 반응에 대해 확산과 흡착에 각각 의존하는 것을 확인할 수 있었다. 이후 실험에서는 지지전해질 용액 내 반응 메커니즘을 단순화하기 위해, 초과산화물 디스무타아제를 전극 표면에 고정하는 것으로 실험을 진행하였다.

위의 결과를 바탕으로 용액 내 크산틴 농도를 측정하기 위한 센서 구조를 Fig. 4에 도시한 대로 디자인하였다. 이 측정 메커니즘에서는 두 개의 특징적인 산화, 환원 피크를 관찰함으로써 용액 중 크산틴의 농도를 정량적으로 측정할 수 있다. 먼저, 지지전해질 내부에 들어있는 크산틴 산화효소가 크산틴을 산화시켜 요산과 산소 음이온 라디칼을 만든다. 다음으로, 전극 표면에 고정된 초과산화물 디스무타아제가 산소 음이온

라디칼을 과산화수소로 환원시키고, 효소 내부의 구리와 아연 이온은 산화된다. 이때, 전극으로부터 초과산화물 디스뮤타아제의 내부 이온을 환원시키는 전류를 관찰함으로써 크산틴의 농도를 측정할 수 있다. 두 번째 신호는 크산틴의 산화반응과 초과산화물 디스뮤타아제 반응의 중간체로 만들어진 과산화수소의 전기화학적 산화반응으로 발생한다. 이때, PtNP@rGO 전극 표면에 PtNP의 카탈레이스 활성을 이용하여 과산화수소를 효과적으로 산화시킬 수 있다. 최종적으로, Fig. 4에 나타난 초과산화물 디스뮤타아제의 환원반응과 과산화수소의 산화반응 신호를 동시에 관찰함으로써 용액 내 크산틴의 농도를 정량적으로 측정할 수 있다.

### 3.3. 크산틴의 전기화학적 측정

크산틴의 전기화학적 측정에 앞서, 크산틴 산화효소가 고정된 PtNP@rGO 나노복합체 전극을 제작하는 각 과정에 있는 전극들에서의 전기화학 측정을 진행하였다. 이 실험은 크산틴의 전기화학적 측정 시스템에 있는 각 물질(PtNP, rGO, SOD)의 역할과 시너지 효과를 확인하기 위해 진행하였다(Fig. 5). 먼저, 순환전압전류법을 이용한 크산틴의 측정을 위해, 1 nM 농도의 크산틴과 크산틴 산화효소 존재 하에 순환전압전류법을 서로 다른 6개의 전극(각 전극은 크산틴 산화효소가 고정된 PtNP@rGO 전극을 만들기 위한 중간

단계의 전극이다)에서 측정하였다. Fig. 5A는 일반적인 유리질 탄소전극을 이용한 측정으로, 주사범위에서 어떤 산화/환원 피크도 관찰할 수 없었다. 다음으로 PtNP가 고정된 유리질 탄소전극(Fig. 5B)에서는 0.6~0.8 V의 범위에서 약한 산화 피크를 보이는데, 이는 크산틴의 산화로 인해 만들어진 산소 음이온 라디칼이 자기반응(disproportionation)을 통해 소량 과산화수소로 변환되고, 이를 PtNP의 카탈레이스 특성으로 전기화학적 산화 신호를 보이는 것으로 해석할 수 있다.<sup>14)</sup> 0.1 V (vs. Ag/AgCl) 근처에서 관찰되는 환원 피크의 경우, PtNP표면에 있는 산소 작용기의 환원에 대한 피크로 해석할 수 있다. Fig. 5C는 rGO가 고정된 유리질 탄소 전극에서의 측정으로, PtNP가 고정된 전극에서와 마찬가지로 0.6~0.8 V의 범위에서 과산화수소의 약한 산화 피크를 보인다. 이 두 가지 전극에서 크산틴의 농도에 따라 생성되는 과산화수소를 측정하는 것으로 정량분석 할 수 있을 것으로도 생각할 수 있으나, (1)산소 음이온 라디칼의 자기반응이 잘 일어나지 않고, (2)관찰되는 산화피크전류의 크기가 너무 작다는 점으로 인해, 효과적인 센서로서 작동하기 어렵다. 다음으로는 초과산화물 디스뮤타아제가 고정된 rGO 전극에서의 측정이다(Fig. 5D). 이 전극에서는 앞서 PtNP-GCE, rGO-GCE 전극에서보다 0.6~0.8 V (vs. Ag/AgCl)의 범위에서 더 작은 과산화수소의 산화 피크를 보이는데, 이는 초과산화물 디스

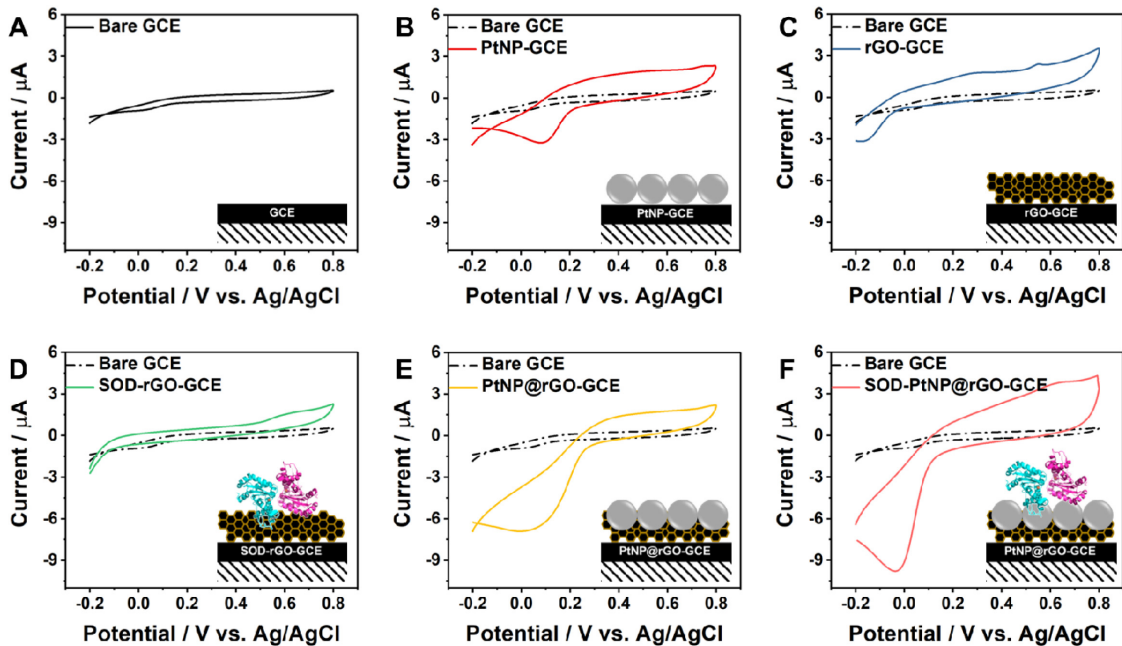


Fig. 5. Comparison of CV peaks

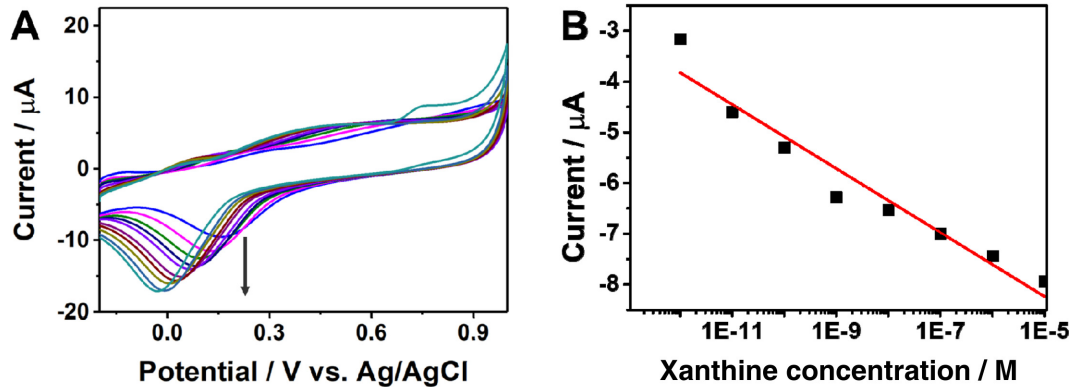


Fig. 6. A. Cyclic voltammograms of SOD-PtNP@rGO-GCE upon the addition of various concentrations of xanthine from  $10^{-12}$  M to  $10^{-5}$  M. B.

뮤타아제가 산소 흡이온 라디칼을 성공적으로 제거하였음을 알 수 있다. 반면에, 초과산화물 디스뮤타아제 내부에 있는 구리/아연 이온에 대한 환원 피크는 관찰되지 않는데, 이는 PtNP의 전기화학 촉매효과의 부재로 인한 것으로 고려된다. Fig. 5E에 제시된 PtNP@rGO-GCE 전극에서는 PtNP-GCE에서와 비슷한 경향성을 보이며, 각각의 산화/환원 피크는 더 큰 것으로 관찰되었다. 이는 평평한 GCE에 고정되는 PtNP보다, 더 넓은 표면적을 갖는 rGO 위에 넓게 분포된 PtNP에 의한 효과로 이해할 수 있다. 마지막으로 SOD가 고정된 PtNP@rGO-GCE 전극에서는  $-0.02$  V 근처에서의 SOD 내부 구리/아연 이온의 환원 피크와  $0.6\sim 0.8$  V 범위의 과산화수소의 산화 피크가 선명하게 관찰되며, 두 개의 신호를 조합하여 크산틴의 전기화학적 정량 측정이 가능함을 확인하였다(Fig. 5F).

앞선 결과들을 바탕으로, SOD-PtNP@rGO-GCE 전극과 순환-전압전류법을 통해 크산틴을  $10^{-12}$  M ~  $10^{-5}$  M 까지 농도를 올려가며 측정하였다(Fig. 6A). 그 결과 크산틴 농도 증가에 따라  $0\sim 0.2$  V 사이에서 SOD의 구리/아연 이온의 환원 피크가 점진적으로 증가하는 것과 동시에  $1.0$  V에서 과산화수소의 산화 피크가 증가하는 것을 관찰하였다. 특별히,  $0\sim 0.2$  V (vs. Ag/AgCl) 사이에서 SOD의 구리/아연 이온의 환원 피크가 농도 증가에 대한 피크 전류 증가가 로그 스케일에서 높은 민감도를 보이므로, 이를 이용하여 Fig. 6B에 제시한 것처럼 검정곡선을 그려 센서의 성능을 확인하였다. 이를 통해 SOD-PtNP@rGO-GCE 전극이 극미량( $10^{-12}$  M)의 크산틴 농도에서도 성공적으로 크산틴을 측정할 수 있는 좋은 센서임을 확인하였다.

#### 4. 결 론

본 연구를 통해, PtNP@rGO 나노복합체 전극을 손쉬운 방법으로 제작하였으며, 표면 특성, 전기화학적 특성을 성공적으로 측정하였다. 또한, SOD 효소의 위치를 전극 표면과 용액으로 바꾸어가며 효소 내부의 구리/아연 이온에 대한 환원 피크를 분석한 결과, 각각 전극 표면에서는 흡착에 의한 전자전달, 용액에서는 확산에 의한 전자전달 메커니즘을 보이는 것을 확인하였다. 나아가 PtNP@rGO 전극을 제작하는 중간 단계의 각 전극에서도 크산틴을 측정해본 결과, 각 물질의 역할을 확인할 수 있었다. 최종적으로, SOD-PtNP@rGO-GCE 전극을 이용하여 크산틴을  $10^{-12}$  M 농도에서  $10^{-5}$  M 농도까지 성공적으로 측정하였다. 이는 본 연구를 통해 제작된 전기화학 센서가 크산틴 측정의 다양한 연구에 활용될 수 있음을 보여주었고 있다. 다만, 전기화학 센서의 성능평가(민감도, 선택성, 안정성, 실제 시료 측정)에 대한 연구가 추후 연구를 통해 수행되어야 할 것으로 사려 된다.

#### Acknowledgments

This work was supported by research grant from Seoul Women's University (2023-0008).

#### References

1. M. Bortolotti, L. Polito, M. G. Battelli, and A. Bolognesi, Xanthine oxidoreductase: One enzyme for multiple physiological tasks, *Redox Biol.*, **41**, 101882 (2021).
2. M. G. Battelli, M. Bortolotti, L. Polito, and A. Bolognesi, The role of xanthine oxidoreductase and uric acid in

- metabolic syndrome, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.*, **1864**(8), 2557–2565 (2018).
3. T. Okuyama, J. Shirakawa, T. Nakamura, T. Murase, D. Miyashita, R. Inoue, M. Kyohara, Y. Togashi, and Y. Terauchi, Association of the plasma xanthine oxidoreductase activity with the metabolic parameters and vascular complications in patients with type 2 diabetes, *Sci. Rep.*, **11**(1), 3768 (2021).
  4. T. Dodevska, A review on xanthine oxidase-based electrochemical biosensors: food safety and quality control applications, *Chemosensors*, **13**(5), 159 (2025).
  5. P. Sharma, D. Thakur, and D. Kumar, Novel enzymatic biosensor utilizing a MoS<sub>2</sub>/MoO<sub>3</sub> Nanohybrid for the electrochemical detection of xanthine in fish meat, *ACS Omega*, **8**(35), 31962–31971 (2023).
  6. M. Czauderna, and J. Kowalczyk, Quantification of allantoin, uric acid, xanthine and hypoxanthine in ovine urine by high-performance liquid chromatography and photodiode array detection, *J. Chromatogr. B Biomed. Sci. App.*, **744**(1), 129–138 (2000).
  7. M. Thevis, G. Opfermann, O. Krug, and W. Schänzer, Electrospray ionization mass spectrometric characterization and quantitation of xanthine derivatives using isotopically labelled analogues: an application for equine doping control analysis, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **18**(14), 1553–1560, (2004).
  8. Q. He, B. Wang, J. Liang, J. Liu, B. Liang, G. Li, Y. Long, G. Zhang, and H. Liu, Research on the construction of portable electrochemical sensors for environmental compounds quality monitoring, *Mater. Today Adv.*, **17**, 100340 (2023).
  9. M. Dervisevic, E. Custiuc, E. Çevik, Z. Durmus, M. Şenel, and A. Durmus, Electrochemical biosensor based on REGO/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> bionanocomposite interface for xanthine detection in fish sample, *Food Control*, **57**, 402–410 (2015).
  10. S. Z. Baş, H. Gülce, S. Yıldız, and A. Gülce, Amperometric biosensors based on deposition of gold and platinum nanoparticles on polyvinylferrocene modified electrode for xanthine detection, *Talanta*, **87**, 189–196 (2011).
  11. D. E. Oh, C.-S. Lee, T. W. Kim, S. Jeon, and T. H. Kim, A flexible and transparent PtNP/SWCNT/PET electrochemical sensor for nonenzymatic detection of hydrogen peroxide released from living cells with real-time monitoring capability, *Biosensors*, **13**(7), 704 (2023).
  12. G. Mathew, N. Narayanan, D. A. Abraham, M. De, and B. Neppolian, Facile green approach for developing electrochemically reduced graphene oxide-embedded platinum nanoparticles for ultrasensitive detection of nitric oxide, *ACS Omega*, **6**(12), 8068–8080 (2021).
  13. A. J. Bard, and L.R. Faulkner, *Electrochemical methods: fundamentals and applications*, New York Weinheim, Wiley, 2001 .
  14. J. Fan, J.-J. Yin, B. Ning, X. Wu, Y. Hu, M. Ferrari, G. J. Anderson, J. Wei, Y. Zhao, and G. Nie, Direct evidence for catalase and peroxidase activities of ferritin–platinum nanoparticles, *Biomaterials*, **32**(6), 1611–1618 (2011).