

**Desenvolvimento de sensor fotoeletroquímico miniaturizado empregando nitreto de carbono grafítico e aplicações na detecção da SARS-CoV-2**

**LUCAS GOMES DA SILVA CATUNDA**

**Tese apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como requisito para obtenção de título de Doutor em Ciências**

**Área de concentração: Físico-química**

**Orientador: Prof. Dr. Sergio Antonio Spinola Machado**

**Coorientador: Prof. Dr. Daniel Souza Corrêa**

**SÃO CARLOS  
JANEIRO 2023**

## RESUMO

CATUNDA, L. G. S. **Desenvolvimento de sensor fotoeletroquímico miniaturizado empregando nitreto de carbono grafítico e aplicações na detecção da SARS-CoV-2.** Tese (Doutorado em Ciências, área de concentração físico-química, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2023)

Em dezembro de 2019, um betacoronavírus SARS-CoV-2 surgiu em Wuhan na China, espalhando-se rapidamente pelo mundo, causando a síndrome aguda respiratória grave (Covid-19). Diversas estratégias foram utilizadas e outras estão sendo desenvolvidas visando frear ou mitigar a disseminação do vírus, incluindo a utilização do isolamento social, de medicamentos, imunização da população via vacinação e diagnóstico da doença. Diversos métodos foram aplicados para diagnosticar a doença, porém, muitos destes testes apresentam custo elevado, pois requerem mão de obra especializada e infraestrutura robusta para realização do diagnóstico, inviabilizando sua aplicação em larga escala em algumas regiões do mundo. Diante disso, o objetivo deste trabalho foi de desenvolver um biossensor “*label-free*” mimetizado, utilizando impressão 3D e Arduino, visando à detecção do vírus da SARS-CoV-2 a partir da amostra de saliva, empregando a técnica fotoeletroquímica (PEC). A tese pôde ser desenvolvida a partir de 3 trabalhos principais que renderam 3 artigos publicados: o primeiro foi referente ao desenvolvimento de uma tinta de Ag/AgCl de baixo custo que foi utilizada como tinta de referência para o genosensor fotoeletroquímico. O segundo artigo foi relacionado ao desenvolvimento de um sensor fotoeletroquímico empregando nitreto de carbono grafítico carbonilado (c-g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>) em eletrodo impresso (SPE) para sua utilização como biossensor fotoeletroquímico. O terceiro foi o complemento ao segundo empregando novamente nitreto de carbono grafítico e, também, empregando nanopartículas de ouro modificadas com glutatona para detecção da SARS-CoV-2 (SPE/c-g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>/GSH-AuNPs) em amostras reais de saliva. Além disso, no terceiro trabalho, foi desenvolvido um dispositivo para acoplar o sistema fotoeletroquímico empregando uma impressora 3D. Ainda, foi utilizado o Arduino para controle do sistema de iluminação e comunicação com o potenciostato para automatização do sistema fotoeletroquímico. Para detecção do vírus, a sonda de captura (cpDNA) foi imobilizada na superfície do eletrodo. O genosensor modificado apresentou um intervalo de respostas linear de 1 a 10000 fmol L<sup>-1</sup> e limites de detecção de 2,2 e 3,4 fmol L<sup>-1</sup> usando dois diferentes tipos de DNA

de captura (cpDNA) do tipo 1A e 3A respectivamente. A sensibilidade e acurácia encontrada utilizando o genosensor de cpDNA 1A com amostras reais foram de 93.3 e 80% respectivamente, indicando o potencial do dispositivo portátil e *label-free* para detecção da SARS-CoV-2 em amostras de saliva.

**Palavras-chave: Detecção SARS-CoV-2; sensor fotoeletroquímico (PEC); teste em saliva; plataforma miniaturizada; Arduino.**

## ABSTRACT

CATUNDA, L. G. S. **Miniaturized and photoelectrochemical sensor development using graphitic carbon nitride, with applications in SARS-CoV-2 detection.** Tese (Doutorado em Ciências, área de concentração físico-química, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2023)

A SARS-CoV-2 betacoronavirus emerged in Wuhan, China, in December 2019. The virus quickly has spread around the world, causing severe acute respiratory syndrome (Covid-19). Several strategies, such as including social isolation, medication, population immunization via vaccination, and disease diagnosis, have been used or are being developed to stop or mitigate the spread of the virus. The disease has been diagnosed using a variety of methods, but many of these tests are expensive because they need specialized labor and a strong infrastructure to be carried out, which makes the widespread use of the virus feasible in some parts of the world. As a result, the goal of this work was to create a mimicked "label-free" biosensor using 3D printing and Arduino, with the goal of detecting the SARS-CoV-2 virus from saliva samples using the photoelectrochemical technique (PEC). The thesis could be built on three main works that resulted in three published articles: the first was about developing a low-cost Ag/AgCl ink that was used as a reference ink for the photoelectrochemical genosensor. The second article was about the development of a photoelectrochemical sensor for use as a photoelectrochemical biosensor using carbonyl graphitic carbon nitride (c-g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>) in printed electrode (SPE). The third study was a follow-up to the second, using graphitic carbon nitride again and using glutathione-modified gold nanoparticles to detect SARS-CoV-2 (SPE/c-g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>/GSH-AuNPs) in real saliva samples. Furthermore, in the third work, a device that could couple the entire photoelectrochemical system in a 3D printer-made device was developed. Arduino was also used to control the lighting system and communicate with the potentiostat to automate the photoelectrochemical system. The capture probe (cpDNA) was immobilized on the electrode surface for virus detection. The modified genosensor demonstrated a linear response range of 1 to 10000 fmol L<sup>-1</sup> and detection limits of 2.2 and 3.4 fmol L<sup>-1</sup>, respectively using two different types of capture DNA (cpDNA), type 1A and 3A. The sensitivity and accuracy of the cpDNA 1A genosensor with real samples were 93.3 and 80%, respectively, indicating the device's potential for detecting SARS-CoV-2 in saliva samples.

**Keywords: SARS-CoV-2 detection; photoelectrochemical sensor (PEC); saliva test; miniaturized platform; Arduino.**