



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA
MESTRADO EM ENGENHARIA ELÉTRICA

AMANDA KÉLVIA DE LIMA FREITAS

**DESENVOLVIMENTO DE UM SENSOR DE RESSONÂNCIA DE
PLÁSMONS DE SUPERFÍCIE BASEADO EM UM *SINGLE-BOARD*
COMPUTER.**

MOSSORÓ

2022

AMANDA KÉLVIA DE LIMA FREITAS

DESENVOLVIMENTO DE UM SENSOR DE RESSONÂNCIA DE
PLÁSMONS DE SUPERFÍCIE BASEADO EM UM *SINGLE-BOARD*
COMPUTER.

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado em Engenharia Elétrica do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Engenharia Elétrica. Área de Concentração: Sistema de Controle e Automação

Orientador: Prof. Dr. Leiva Casemiro Oliveira

MOSSORÓ

2022

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

F862d Freitas, Amanda Kélvia de Lima.
d Desenvolvimento de um sensor de ressonância de plasmons de superfície baseado em um single-board computer / Amanda Kélvia de Lima Freitas. - 2022. 87 f. : il.

Orientador: Leiva Casemiro Oliveira.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Engenharia Elétrica, 2022.

1. Sensor óptico. 2. Ressonância de Plásmons de Superfície. 3. PPBIO. 4. DOCE-Chip. 5. Raspberry. I. Oliveira, Leiva Casemiro, orient. II. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade com AACR2 e os dados fornecidos pelo autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

Aos meus pais, como forma mínima de retribuição pelas diversas expressões de cuidado, por me instruírem nos momentos difíceis e por todo o esforço que sempre fizeram para me manter no melhor caminho possível. Aos meus amigos e a todos os que me ajudaram ao longo desta caminhada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por tudo, coisas boas e as ruins, que me trouxeram ensinamentos.

A toda minha família, em especial minha mãe, que me apoiou e acompanhou de perto toda minha trajetória e minhas conquistas. A todos eles, sou grata por tudo que sou!

Aos meus amigos que estiveram sempre ao meu lado, por seu carinho, momentos de descontração e pelo apoio demonstrado ao longo de todo o período em que me dediquei a este trabalho. Em especial para Daniella Priscila e Alan Robson, pela colaboração e apoio nesta etapa bem árdua desta caminhada rumo ao crescimento profissional.

A meu orientador Leiva Casemiro, por acreditar no meu potencial, pela orientação, compreensão e por desempenhar tal função com dedicação.

Aos professores Sílvio Fernandes, Marcus Antônio e Idalmir, pelas correções e ensinamentos.

Ao professor Auzuir Ripardo Alexandria por me permitir utilizar os equipamentos do laboratório LEM (IFCE - Fortaleza) e, desta forma, contribuir fortemente para que mais este passo fosse dado.

Aos professores e funcionários do Departamento de Pós-Graduação Engenharia Elétrica da UFERSA e a instituição de ensino UFERSA, essencial no meu processo de formação profissional e por tudo o que aprendi ao longo do curso.

Aos meus companheiros de trabalho na *Phoebus* Tecnologia, em especial José Silva e Felipe Lisboa, pelo privilégio de trabalhar com todos vocês.

A todos aqueles que contribuíram, de alguma forma, para a realização deste trabalho e que me permitiram apresentar um melhor desempenho no meu processo de formação profissional ao longo do curso.

A todos esses, obrigada! O apoio de vocês foi crucial.

"O sonho é que leva a gente para frente. Se a gente for seguir a razão, fica aquietado, acomodado. Quem tem propósito, conquista o improvável! "

(Adaptado de Ariano Suassuna)

RESUMO

Impulsionados por uma série de avanços tecnológicos, tem-se observado nos últimos anos, uma tendência de desenvolvimento de dispositivos portáteis e de baixo custo para a análise de substâncias em tempo real e testes em ponto atendimento (*do inglês, point-of-care testing - PoCT*). Essa disposição aliado à vasta aplicabilidade dos sensores baseados no princípio de ressonância de *plásmons* de superfície ou SPR (*Surface Plasmon Resonance*) impulsionaram a criação de novos sensores. Na literatura, encontramos vários trabalhos que investigam a utilização de sensores SPR baseados em *smartphones*. Plataformas computacionais de pequeno porte, como o *single-board computer* (SBC), têm sido amplamente utilizadas como alternativa aos *smartphones* devido ao seu baixo custo e capacidade de processamento e de integração com periféricos equivalentes. Entretanto, esses sensores são montados experimentalmente em laboratório e dependem de outros dispositivos para realizar a aquisição, processamento ou armazenamento de dados, dificultando locomoção do sensor e, conseqüentemente, a realização de testes em PoCT. Com base nisso, este trabalho propõe um sensor SPR, baseado em um SBC, com estrutura passível de uso em campo, ou seja, fora do ambiente laboratorial. O sensor foi projetado para trabalhar utilizando o *Raspberry Pi* como unidade de processamento, os *biochips* PPBIO e DOCE-Chip e é responsável por processar, exibir, armazenar e entregar as respostas SPR ao usuário. A estrutura mecânica do sensor foi confeccionada em impressora 3D, mede $194 \times 200 \times 90$ mm e é composta pela case, tampa superior, tampa traseira e partes móveis internas. A case possui um *display* em que são exibidas as informações para o usuário em tempo real e, junto com as tampas, encapsulam as peças móveis internas. Para contornar as diferenças geométricas entre os *biochips* PPBIO e DOCE, são utilizados adaptadores instalados na tampa superior do sensor. A validação do protótipo se deu por meio de testes simulados e testes com soluções biológicas utilizando o DOCE-Chip. A transição entre as substâncias químicas gerou uma variação no índice de refração de 3.0×10^{-2} RIU, correspondendo a uma variação no ângulo de ressonância ($\Delta\theta$) de 4.8° . O sensor apresentou sensibilidade de aproximadamente $160^\circ/\text{RIU}$ (*do inglês, Refractive Index Unit*), comparável configuração tradicional para este *biochip*.

Palavras-chave: Sensor óptico. Ressonância de Plásmons de Superfície. PPBIO. DOCE-Chip. VIR. Raspberry Pi. Single-Board Computer (SBC).

ABSTRACT

Driven by a series of technological advances, in recent years there has been a trend towards the development of low-cost portable devices for real-time substance analysis and point-of-care testing. This arrangement allied to the wide applicability of sensors based on the principle of resonance of *plasmons* of surface or SPR (*Surface Plasmon Resonance*) stimulated the creation of new sensors. In the literature we find several works that investigate the use of SPR sensors based on *smartphones*. Small computing platforms, such as the *single-board computer* (SBC), have been widely used as an alternative to *smartphones* due to their low cost and equivalent processing capacity and integration with peripherals. However, these sensors are experimentally assembled in the laboratory and depend on other devices to perform the acquisition, processing or storage of data, making it difficult to move the sensor and, consequently, carry out tests in PoCT. Based on this, this work proposes an SPR sensor, based on an SBC and with a structure that can be used in the field, that is, outside the laboratory environment. The sensor was designed to work using the *Raspberry Pi* as a processing unit, the *biochips* PPBIO and DOCE-Chip and is responsible for processing, displaying, storing and delivering the SPR responses to the user. The sensor's mechanical structure was made in a 3D printer, measures $194 \times 200 \times 90$ mm and comprises the case, top cover, back cover and internal moving parts. The case has a *display* where information is displayed to the user in real time and, together with the lids, encapsulates the moving parts inside. To circumvent the geometric differences between the PPBIO and DOCE *biochips*, adapters installed on the top cover of the sensor are used. The prototype validation took place through simulated tests and tests with biological solutions using the DOCE-Chip. The transition between the chemical substances generated a variation in the refractive index of 3.0×10^{-2} RIU, corresponding to a variation in the resonance angle ($\Delta\theta$) of and 4.8° . The sensor had a sensitivity of approximately $160^\circ/\text{RIU}$ (Refractive Index Unit), comparable to the traditional configuration for this *biochip*.

Keywords: Optic Sensor. Surface Plasmon Resonance. PPBIO. DOCE-Chip. VIR. Raspberry Pi. Single-Board Computer (SBC).

LISTA DE FIGURAS

1	Número de publicações sobre biossensores, conforme o Google Scholar.	14
2	Configuração de excitação dos plásmons de superfície do sensor óptico multicamada SPR baseado em Otto (a) e Kretschmann <i>et al.</i> (b)	27
3	Diagrama de blocos da configuração de Kretschmann em situação de ressonância: a onda de plásmons é excitada pelo campo evanescente (E_{ev}) gerando os vetores de luz incidente (K_{px}) e vetor de SP (K_{sp}).	27
4	Análise da curva característica do fenômeno SPR	30
5	Diagrama metodológico para o sensor proposto	35
6	Diagrama de Blocos baseado na configuração de Kretschman para o Modo AIM — PPBIO.	37
7	Diagrama de Blocos baseado na configuração de Kretschman para o Modo AIM — DOCE.	37
8	Arquitetura do hardware da solução proposta.	38
9	Detalhamento técnico e dimensões do Prisma PPBIO.	40
10	Detalhamento técnico e dimensões do Virchip.	40
11	Diagrama de ações do usuário na interface de software proposta.	42
12	a) Estrutura mecânica do Sensor SBC-SPR composto pela caixa principal (chassis), tampas traseira e superior. b) Indicação das partes internas. A finalidade de cada elemento é indicada. Diagrama para a excitação SPR com c) PPBIO e d) biochips DOCE. São descritos os elementos e os respectivos movimentos/ajustes necessários.	44
13	Tampa superior com adaptação para dar suporte aos <i>biochips</i> PPBIO e DOCE.	46
14	Detalhes construtivos das células de fluxo. Célula de fluxo do DOCE-Chip à esquerda e célula de fluxo do PPBIO à direita. Indicação da entrada do canal em a) e e), canais de condução em c) e g) e saída da solução química da célula em b) e f). Em d) e h) são exibidas as dimensões das células de fluxo.	47
15	Visão em perspectiva do alinhamento entre espelho, câmera e <i>biochip</i>	48
16	Sistema de movimentação das lentes.	49

17	Diagrama esquemático do circuito de acionamento do <i>laser</i> , do <i>cooler</i> e motores.	51
18	Circuito eletrônico - Projeto PCI e Montagem.	52
19	Fluxo de execução.	53
20	Tela da interface do usuário: curva SPR.	55
21	Tela da interface do usuário: Sensorgrama.	55
22	Fotografias do protótipo do Sensor SBC-SPR. a) vista frontal, b) vista traseira e vista superior com elementos de tampa superior para os biochips c) DOCE-chip e d) PPBIO.	58
23	Vista superior do sensor com os biochips PPBIO e DOCE-chip e seus respectivos adaptadores.	59
24	Sistema embarcado do sensor SPR: alinhamento óptico e mecânico do sensor — vista traseira.	59
25	Sistema embarcado do sensor SPR: alinhamento óptico e mecânico do sensor - vista superior.	60
26	Processo de calibração do sensor utilizando água como elemento biológico.	61
27	Estudo comparativo entre os métodos de suavização aplicados ao sinal de imagens experimentais de H ₂ O e NaClO. a) Sem tratamento de sinal. Aplicado filtro de média móvel em b), filtro de mediana em c) e filtro gaussiano em d).	62
28	Comparação entre os métodos de detecção do ponto de ressonância.	63
29	Simulação do fenômeno SPR ao inserir um analito na superfície do biochip.	64
30	Sensorgrama: simulação da mudança do ponto de ressonância do analito.	65
31	Processo de calibração do sensor utilizando água como elemento biológico.	66
32	Processo de calibração do sensor utilizando solução de água e hipoclorito de sódio como elemento biológico.	67
33	Estudo comparativo entre os métodos de detecção do ponto de ressonância.	68

LISTA DE TABELAS

1	Trabalhos baseados em sensores SPR	23
3	Tabela de funcionalidades	56
4	Comparação entre os métodos de detecção do ponto de ressonância extraídos da curva SPR.	68
5	Orçamento do material utilizado no projeto	87

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Objetivos	18
1.2	Trabalhos Relacionados	18
1.3	Estrutura do Trabalho	25
2	REFERENCIAL TEÓRICO	26
2.1	Ressonância de plásmons de superfície	26
2.2	Equações de Fresnel	28
2.3	Análise da curva	30
2.3.1	Calibração	31
2.3.2	Suavização da Curva SPR	31
2.3.3	Algoritmos para Detecção do valor mínimo da curva	32
2.3.4	Relação pixel-ângulo	34
2.4	Resumo	34
3	METODOLOGIA	35
3.1	Análise de requisitos e especificações do projeto do sensor SPR	36
3.1.1	Hardware	38
3.1.2	Software	41
3.1.3	Estrutura Mecânica	41
4	RESULTADOS	43
4.1	Estrutura mecânica	43
4.1.1	Case	45
4.1.2	Adaptadores e Célula de Fluxo	45
4.1.3	Suportes da câmera e do espelho	47
4.1.4	Sistema de movimentação dos componentes ópticos	48
4.1.5	Impressão das peças em 3D	49
4.2	Hardware	50
4.3	Software	52
4.3.1	Processamento de dados	52
4.3.2	Interface com o usuário	54
4.4	Protótipo físico	57

4.5	Testes e validação	60
4.5.1	Testes Iniciais	61
4.5.2	Testes Integrado simulados	63
4.5.3	Teste integrado com soluções químicas	64
5	CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS	69
	REFERÊNCIAS	71
	APÊNDICES	76
	APÊNDICE A – Design do Projeto v1.0	76
	APÊNDICE B – Configurações de impressão 3D	80
B.1	Célula de Fluxo	80
B.2	Base da câmera	81
B.3	Suportes da célula de fluxo	82
B.4	Tampa superior e case	84
B.5	Demais peças	85
	APÊNDICE C – Orçamento do protótipo	87

1 INTRODUÇÃO

Muitos procedimentos e testes médicos são empregados para diagnosticar câncer, acidente vascular cerebral, ataque cardíaco, entre outras condições. Entretanto, esses procedimentos, muitas vezes, exigem a utilização de equipamentos dedicados, pessoal técnico qualificado, têm restrições de tempo e geralmente possuem um custo elevado. Nesse contexto, os biossensores surgem como alternativas mais baratas e até mais rápidas a estes procedimentos.

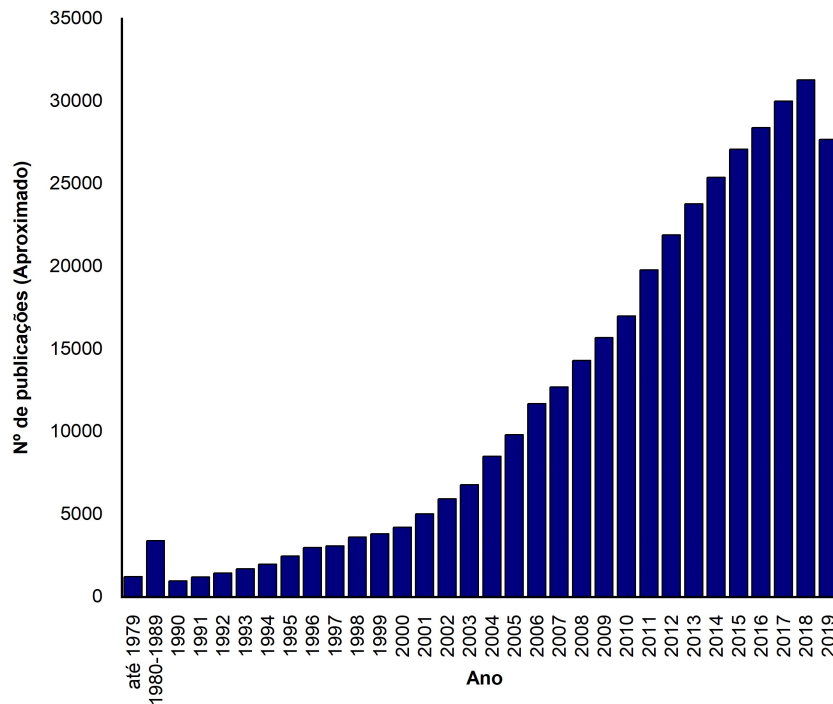
Biossensores são dispositivos analíticos que oferecem análises simplificadas e sem reagentes para uma variedade de aplicações. Eles possuem alta especificidade e sensibilidade, são considerados de baixo custo, de fácil construção, ser portáteis e incorporam elementos biológicos, como enzimas, anticorpos e proteínas como elemento de reconhecimento. A ideia por trás de um biossensor é gerar um sinal mensurável que seja proporcional à concentração de um analito-alvo ou a um grupo de substâncias. De forma geral e abrangente, um biossensor poderia ser definido como um sensor operado fisicamente ou quimicamente em amostras biológicas.

O desenvolvimento do primeiro biossensor surgiu em 1962 com o trabalho de Clark e Lyons (1962) e, desde então, vem atraindo cada vez mais a atenção de pesquisadores. Em uma pesquisa realizada recentemente pelo termo "biossensor" utilizando a plataforma *Google Acadêmico*, observamos que, embora o número de publicações no ano de 2019 tenha sido menor que o esperado, durante as últimas décadas houve aumento expressivo no interesse do público pelo tema "biossensor" e no número de publicações a cada ano. Os resultados desta pesquisa estão representadas na figura 1,

A principal revista do campo, *Biossensores e Bioeletrônica* foi lançada em 1985 pela *Elsevier* com apenas trinta artigos (TURNER, 2013). Logo após, muitas limitações relacionadas às aplicações biológicas foram vencidas com a combinação da bioeletrônica e nanotecnologia. Isso propiciou um avanço sem precedentes no desenvolvimento de novos biossensores.

Esse rápido crescimento foi impulsionado por diversos outros fatores e, entre eles, podemos destacar a multidisciplinaridade de aplicação dos biossensores. Hoje em dia, os principais campos de aplicação são medicina, agricultura, monitoramento ambiental, segurança alimentar, segurança nacional e aplicações militares (KIRSCH *et al.*, 2013). Porém, esse rápido crescimento indica haver um forte interesse no campo e que este terá

Figura 1 – Número de publicações sobre biossensores, conforme o Google Scholar.



Fonte: Elaboração própria, 2022.

um impacto enorme e crescente no futuro (HELMERHORST *et al.*, 2012).

A expansão do campo de atuação dos biossensores atraiu não só pesquisadores, mas também investidores. Um estudo recente realizado pelo Grand View Research (2020) informa que o mercado global de biossensores foi avaliado em 19,6 bilhões de dólares no ano de 2019 e prevê que este atinja 36 bilhões até 2027. Destes, podemos destacar os testes de monitoramento de glicose no sangue. Com o aumento da prevalência do diabetes, estes testes dominaram a indústria de biossensores com 71,3% de participação na receita (UGALMUGLE, 2019).

Existem muitos métodos para detectar o analito de interesse, tais como métodos eletroquímicos, incluindo voltametria, amperometria, potenciometria e impedância eletroquímica; métodos ópticos tais como ressonância de *plásmons* de superfície; e métodos piezoelétricos que medem mudanças de massa, como microbalança de cristal de quartzo e técnicas de ondas acústicas de superfície. Uma descrição detalhada sobre o tema estaria fora do escopo desta introdução e, em vez disso, este capítulo se concentra na introdução dos sensores baseados em princípios ópticos, em especial os que utilizam o princípio de ressonância de *plásmons* de superfície (SPR, sigla em inglês para (Surface *plásmons* Resonance)).

Os biossensores baseados no fenômeno de ressonância de *plásmons* de superfície

vem sendo amplamente explorados como alternativa para detecção de interações moleculares e para a caracterização de soluções. O SPR é uma técnica não invasiva, sem necessidade de marcação e permite monitoramento em tempo real de interações biológicas e da concentração de um analito em uma solução através da conversão da variação do índice de refração (IR) em sinais elétricos. Além disso, estes sensores também apresentam alto grau de sensibilidade e alta reprodutibilidade (MARIANI; MINUNNI, 2014).

Em 1982, foi relatado o primeiro trabalho sobre SPR como biossensor e, em 1990, a sueca *Biacore* lançou o primeiro biossensor comercial baseado na ressonância de *plásmons* de superfície (LIEDBERG *et al.*, 1995). Desde então, vem crescendo continuamente a procura por esse tipo de tecnologia. De acordo com dados coletados na plataforma *PubMed*, o interesse dos pesquisadores foi tanto que em 2016 o número de publicações que incluíam dados de biossensores comerciais aumentou para mais de 20.000 artigos (SCHASFOORT, 2017).

Todo esse esforço resultou em uma variedade de soluções para diagnóstico de doenças. Além disso, surgiram equipamentos mais eficientes, portáteis, de custo reduzido e de fácil operação, minimizando a necessidade de mão de obra especializada. Uma série de trabalhos relacionados a diagnóstico médico, pesquisa farmacêutica, monitoramento ambiental, detecção de toxinas, controle de qualidade de alimentos, entre outras áreas, relatam a utilização de SPR na detecção de DNA, proteínas, vírus, bactérias e outras substâncias (HOMOLA, 2008; CENNAMO *et al.*, 2016; MASSON, 2020).

Ainda que tenhamos várias alternativas, os biossensores SPR têm muito a evoluir. Os métodos convencionais de análise e detecção de interações biomoleculares necessitam de profissionais treinados e laboratórios específicos com custo consideravelmente elevado (HELMERHORST *et al.*, 2012; MOREIRA, 2010). A busca por equipamento simples, de baixo custo e com pouca necessidade de pessoas qualificadas para manusear o equipamento ainda continua.

Nos últimos anos, uma série de avanços tecnológicos no âmbito da eletrônica e processamento possibilitou a criação de sistemas embarcados e impulsionou o desenvolvimento de testes ponto atendimento, também chamados de *point-of-care testing* (PoCT). Muitas soluções descrevem sensores SPR empregando sistemas microcontrolados e microcomputadores de placa única (SBC, sigla em inglês para Single-Board Computer). O *Arduino* e o *Raspberry Pi* têm ganhado grande popularidade devido ao baixo custo e à

possibilidade de comunicar com um grande número de periféricos, tais como câmeras e telas *touch-screen*. O *Raspberry PI*, em especial, apresenta capacidade de processamento que pode ser equiparada com a de um computador regular e, desta forma, consegue lidar com as principais tarefas de processamento do sensor SPR (aquisição de dados, processamento, exibição e armazenamento). Além disso, a plataforma possui tamanho reduzido e pode permitir a criação das mais variadas soluções. Ademais, também foram documentados sensores portáteis SPR baseados em *smartphones* que serão discutido nas seções seguintes.

Atualmente, vários trabalhos têm investigado sensores baseados em plataformas portáteis de prototipagem. Sabarman *et al.* (2015) utiliza um sensor comercial para realizar a aquisição do sinal SPR e um *Arduino* para processamento. Novas configurações foram testadas utilizando fibra óptica plástica (SPR-POF) como elemento sensor aliado a um *Arduino* para detecção rápida e em tempo real do sinal SPR no trabalho de Cennamo *et al.* (2015). Voichita *et al.* (2016) apresenta uma solução semelhante a anterior utilizando a plataforma *Raspberry Pi* para aquisição e processamento de dados. Por fim, a integração do *Raspberry Pi* com periféricos, câmera CCD e com *display touch-screen* é observada no trabalho de Vestri *et al.* (2020).

Visando melhorar a qualidade do sensor e torná-lo mais simple e barato, novas soluções baseadas no efeito SPR também foram apresentadas, a exemplo dos *biochips* DOCE-Chip e PPBIO utilizados para O Virchip ou Doce-Chip (do inglês, *Diffraction Optical Coupling Element - Doce*) é um substrato óptico que viabiliza a excitação SPR, fabricado por injeção e é utilizado para realizar experimentos SPR baseados no modo de variação angular. O *biochip* utiliza elementos de acoplamento óptico difrativo (DOCE) na entrada e saída, que facilitam que a luz incidente atinja a superfície do biochip de forma perpendicular Piliarik *et al.* (2009), Thirstrup *et al.* (2004). Já o PPBIO foi proposto por Moreira (2010), sendo considerado o primeiro *biochip* óptico genuinamente brasileiro baseado no fenômeno de SPR. O *biochip* é um um prisma trapezoidal fabricado utilizando técnicas de injeção chamado prisma polimérico para aplicações biológicas (PPBIO). O *biochip* PPBIO dispensa a utilização de óleo, gel, elementos mecânicos de rotação, tem um custo de aproximadamente U\$D 1,00 sendo adequado para aplicações que exijam portabilidade.

Nesta seção, são abordados alguns trabalhos existentes na literatura sobre sensores SPR com configurações, modos de operação diferentes e também foram relatados

sensores construídos em bancadas de laboratório, sensores acoplados em *smartphones* e, por último, também relatamos os sensores autônomos (*stand-alone*). Detalhes sobre os trabalhos supracitados são apresentados na seção 1.2.

Como os *smartphones* são dispositivos produzidos em larga escala, são facilmente encontrados no mercado e possuem uma ótima relação custo-benefício, dado que possuem *hardware* e *software* modernos e recursos de integração total como *display* e câmera. Entretanto, quando nos referimos à personalização de funcionalidades do sensor ficamos limitados ao *hardware* dos *smartphones*. Tendo isso em vista, as plataformas de prototipagem eletrônica baseadas em *Arduino* e *Raspberry Pi* têm se mostrado soluções de baixo custo e com integração total com *display* e outros periféricos. Além disso, para personalização dos projetos, pode-se utilizar das portas analógicas e digitais para realizar aquisição de sinais e controlar dispositivos. Em contrapartida, a depender da complexidade, o protótipo pode ter um custo de fabricação maior, pois não é fabricado em larga escala.

Podemos classificar os sistemas emparcados em dois grupos: as plataformas experimentais montadas em laboratório e os dispositivos *stand-alone*. Os testes feitos no laboratório têm por finalidade validar o funcionamento do sistema, bem como a integração do *hardware* e *software* de forma rápida. Além disso, esse tipo de montagem também permite ao projetista realizar alterações no protótipo para dar robustez necessária. No entanto, o sensor fica restrito ao laboratório, passível de ser desmontado e muitas vezes necessita de outros dispositivos para realizar o processamento, exibição e armazenamento de dados. Já os dispositivos *stand-alone*, no que lhe concerne, são instrumentos autônomos, geralmente têm uma case que envolve todas as partes do dispositivo, podem ser transferidos de lugar facilmente e são independentes de outros dispositivos, tais como computador, para processar, exibir ou armazenar os dados.

Desse modo, esse trabalho pretende desenvolver um sensor SPR utilizando um mini computador de placa única com elemento central para aquisição, processamento e exibição da resposta do sensor. A excitação dos *plásmons* de superfície será baseada na configuração *Kretschmann* para o sensor operando no modo de interrogação angular (AIM, sigla em inglês para *Angular Interrogation Mode*). O prisma PPBIO e o DOCE-chip Thirstrup *et al.* (2004) serão utilizados por sua facilidade de instrumentação. Devido às limitações geométricas entre os *biochips*, algumas partes do sensor deverão ser móveis e para que seja fornecido o correto alinhamento entre o feixe de luz incidente e os elementos

ópticos móveis, iremos utilizar motores de passo controlados por um *Raspberry Pi*.

1.1 Objetivos

O objetivo principal deste trabalho é estudar, desenvolver e caracterizar um sensor óptico de ressonância de *plásmons* de superfície portátil baseado na unidade de processamento *Raspberry Pi*.

Definem-se como objetivos específicos deste trabalho:

- Realizar uma pesquisa bibliográfica acerca da estrutura, funcionamento e aplicações sensores portáteis SPR;
- Projetar e desenvolver um *software* direcionado para a solução proposta;
- Investigar, modelar e imprimir em 3D a estrutura mecânica do sensor;
- Investigar, projetar e construir a eletrônica do sensor;
- Integrar as estruturas com o chip de alta e baixa espessura, PPBIO e DOCE-chip respectivamente;
- Realizar testes experimentais e avaliar os resultados;
- Apresentar e analisar os resultados do sensor, especialmente no que se refere à curva SPR;

1.2 Trabalhos Relacionados

A seguir, será apresentado uma revisão literária acerca das pesquisas desenvolvidas com foco na implementação de dispositivos SPR portáteis de biossensoriamento em campo ou em locais remotos.

Em 2006, Telezhnikova e Homola (2006) desenvolveu uma nova tecnologia baseada na excitação simultânea de *plásmons* de superfície e dispersão da luz no mesmo acoplador de grade de difração (SPRCD). Nessa configuração, não é necessário utilizar prisma ou espectrômetro e permite a construção de dispositivos simples e compactos. Piliarik *et al.* (2009) aprimorou o trabalho, introduziu controle de temperatura para suprimir os efeitos do ambiente e desenvolveu um sistema automatizado de cartuchos para garantir a reprodutibilidade. O sistema mede $15\text{cm} \times 15\text{cm}$ e foi capaz de medir mudanças no índice de refração na ordem de 3×10^{-7} RIU (unidades de índice de refração). Entretanto, esse sistema é montado manualmente em laboratório, necessita de um computador para

realizar a análise dos dados e exibir resultados para o usuário.

Feltis *et al.* (2008) construiu o primeiro equipamento SPR totalmente portátil e *stand-alone*. O dispositivo microcontrolador baseia-se na configuração de *Kretschmann* e *Raether* e realiza uma medição por vez. Seu tamanho é de $15 \times 8 \text{ cm}$, pesa 600g, tem bateria embutida, não necessita de computador para operar, mas pode ser integrado a um para aquisição de dados e armazenamento. As medições são realizadas em 10 minutos, sendo exibidas em um *display* LCD.

O projeto desenvolvido por Hu *et al.* (2009) expõe um biossensor SPR de três canais baseado no módulo fabricado pela *Texas Instruments Inc.*, o *Spreeta* (TSPR1K23). O biossensor não requer o uso de computador sendo composto por uma célula de microfluxo, um resfriador termoelétrico, uma pinça, uma tela *touch-screen* e os microprocessadores PIC24F128 e PIC16F876A fabricados pela *Microchip*. O sistema conta com um algoritmo de controle de temperatura para manter as amostras em temperatura constante e as medições duram cerca de 5 minutos. O coeficiente de determinação (R-quadrado) é de 0,998.

Brulé *et al.* (2017) também utilizou um sensor comercial na sua solução, o P4-SPR da *Affinite Instruments*. O autor desenvolveu uma solução portátil para detectar, em campo, materiais explosivos em amostras ambientes de água. O "RDX SPR sensor" baseia-se na configuração de *Kretschman*, suporta variações de temperatura (0 à 30°C) e medições contínuas por, no máximo, um dia. O tempo para obtenção dos resultados varia entre 45 à 90 minutos, com desvio padrão é de 20%, se comparados aos resultados realizados em laboratório. Em contrapartida, o RDX SPR sensor necessita de um computador para processamento. Também foram relatados problemas relacionados à formação de bolhas na água durante o verão, a necessidade de recalibração após cada medição e de proteger o sistema para evitar variações de temperatura.

Rampazzi *et al.* (2015) elaborou um dispositivo autônomo baseado na ressonância localizada de *plásmons* de superfície (LSPR) compacto e com dois canais. O dispositivo mede $5 \times 6 \times 17 \text{ cm}^3$ e pesa menos de 500g. Os dados são executados por um processador *ARM Cortex-M4* e exibidos em um *display touch-screen 7"*. Os experimentos realizados com soluções de glicerol mostraram uma sensibilidade de 6×10^{-5} RIU e o custo estimado do dispositivo é de menos de EUR 600,00.

Um dos primeiros sistemas SPR baseado em *smartphone* utilizando o *iOS* foi

desenvolvido por Preechaburana *et al.* (2012). O sistema consiste em um dispositivo acoplado a superfície da tela do celular durante a medição e pode ser descartado no final. A própria iluminação da tela e a câmera frontal do celular são utilizadas para excitação de *plásmons* de superfície e para captura do fenômeno. O sistema produzido por Souza Filho *et al.* (2014) utiliza um biochip criado pela empresa dinamarquesa VIR, DOCE Chip, associado a uma capa fabricada em impressora 3D. Esta capa acoplada à tela do celular que fornece iluminação e à câmera frontal para realizar a detecção de substâncias. Após realizar os testes, determinou-se que a sensibilidade do instrumento se aproxima de 10^{-5} RIU. Bremer e Roth (2015) relatou um sensor SPR para *smartphone* que utiliza um sistema de fibra óptica e grades de difração. O sensor utiliza a câmera e a luz do flash do celular para iluminar, o resultado é gravado através de um vídeo no formato *mp4* (480 x 640 *pixels*). Posteriormente, esse vídeo é processado utilizando o *Matlab*. A sensibilidade encontrada foi de 5.96×10^{-4} e, embora não seja um bom resultado, o estudo relata um sensor simples, compacto, de baixo custo e com um grande potencial para monitoramento em campo.

Falqueto (2019) incorporou o PPBIO ao *smartphone*, entretanto foram encontradas fontes de erro que o autor não conseguiu contornar. Mesmo que o projeto não tenha alcançado completamente seu objetivo, mostrou-se viável para identificação de substâncias em tempo real e a baixo custo.

O trabalho de Moreira *et al.* (2018-2019) é semelhante ao apresentado por Falqueto (2019). A estrutura pode ser acoplada e removida do *smartphone* facilmente e é composta por um *biochip* PPBIO e lentes. Neste trabalho, a própria tela e a câmera do telefone são utilizadas como fonte luz, para detecção e determinam o nível de concentração da substância.

A pesquisa realizada por Cennamo *et al.* (2015) demonstra um biossensor SPR baseado na plataforma *Arduino ATMEGA2560* e fibra óptica plástica (SPR-POF) para detecção rápida e em tempo real. A solução dispensa o uso de computador e foi testada em várias soluções de glicerina e água. Os resultados experimentais exibem um coeficiente de correlação da ordem de 0.999, enquanto a sensibilidade do sensor é de 2×10^{-3} RIU.

A plataforma desenvolvida por Sabarman *et al.* (2015) utiliza um *Spreeta 2000* como sensor, *Arduino Mega 2560* para processar o sinal SPR e um computador para exibir os dados para o usuário. Soluções em várias concentrações de álcool etílico foram utilizadas

para validar o sensor. O sistema pode detectar o álcool com resolução de 1.2×10^{-4} RIU. De acordo com Somarapalli *et al.* (2017), se o Spreeta for fabricado para uso em laboratório, o seu valor estimado é de \$600 *USD* por conta dos componentes caros. Entretanto, se for produzido em massa, seu valor pode ser reduzido para cerca de 50 *USD*.

Moreira (2016) apresentou estudo teórico e experimental sobre a ressonância do plásmon de superfície com a técnica de reflexão total atenuada. A aquisição dos dados é realizada por meio da plataforma de prototipagem eletrônica *Arduino UNO*. O *Arduino* é conectado a um computador através da porta USB-Serial, no qual os dados adquiridos são processados e exibidos pelo *software Matlab*. O limite de detecção do dispositivo é de 9.84×10^{-4} RIU, demonstrando ser adequado para a detecção de água em etanol para controle de combustíveis.

O projeto de Laksono *et al.* (2018) buscou desenvolver um biossensor de alta precisão e para isso aplicou uma engrenagem anti-folga. O sistema baseado na plataforma *Arduino* utiliza fotodetector (OPT101, *Texas Instruments*), um conversor analógico digital (ADS1115), para reduzir possíveis ruídos, e um computador, no qual os dados são processados através do *software LABView*. A adição dessa nova engrenagem melhorou a precisão do sistema para 0.01% e o ângulo de varredura para 30° – 70°.

Gomez-Cruz *et al.* (2018) propôs uma alternativa baseado nos sensores de imagem por Ressonância de plásmons de Superfície (SPRi) para a detecção de *Escherichia coli uropatogênica* (UPEC). O biossensor utiliza a plataforma *Raspberry Pi* e explora o fenômeno nanoplasma das matrizes de *nanohole* através da técnica SPRi. Medindo apenas $3 \times 3 \times 5 \text{ cm}$, o sensor oferece o diagnóstico em menos de 35 minutos e requer tratamento mínimo de amostras. Os resultados mostraram que a sensibilidade do sensor é de $10e^{-6}$ RIU e o limite de detecção da UPEC é de aproximadamente 100 CFU/ml, o que é bem abaixo do limite de diagnóstico em UTI.

Em seu trabalho, Voichita *et al.* (2016) apresenta uma solução semelhante a de Cennamo *et al.* (2015) e usa fenômeno SPR integrado com fibra óptica de plástico (SPR-POF), entretanto, para isso utiliza a plataforma *Raspberry Pi*. O biossensor monitorou soluções de água-glicerina com um coeficiente de determinação (R-quadrado) de 0,973. A solução proposta oferece facilidades tais como: monitor *touch-screen*, histórico de medições, armazenamento em nuvem, acesso de dados fora do laboratório e em outras plataformas tais como computador ou *smartphone*.

Vestri *et al.* (2020) apresentou um equipamento portátil de aproximadamente $30\text{cm} \times 30\text{cm}$ utilizando a plataforma *Raspberry Pi* acoplado a um sensor de imagem *CCD* e a um monitor *touchscreen*. A resolução do índice de refração do equipamento encontrada foi de 4.9×10^{-6} RIU em soluções de sacarose. O diferencial deste equipamento são as portas de comunicação *Ethernet*, *USB* e a possibilidade de comunicar com outros periféricos.

O primeiro biossensor nacional baseado no fenômeno de SPR foi proposto em Moreira *et al.* (2009). O trabalho apresentou um *biochip* óptico para aplicações biológicas chamado PPBIO. Com o formato trapezoidal e baseado no polímero TOPAS COC, o PPBIO funciona como substrato óptico e custa aproximadamente USD 1,00. Foram fabricados prismas de diferentes larguras (10mm e 20mm) e então foram cobertos com filmes finos de ouro (50nm). Os testes mostraram-se promissores com a variação do índice de refração com a mudança do analito. Outros trabalhos utilizando o mesmo *biochip* foram publicados em Oliveira *et al.* (2013), Moreira *et al.* (2016).

Nesta seção, abordamos alguns trabalhos existentes na literatura sobre a construção de sensores SPR com configurações, modos de operação diferentes e baseados em plataformas distintas, tais como *smartphone*, *Arduino* e *Raspberry Pi*. Foram relatados sensores construídos manualmente em bancadas de laboratório, sensores acoplados em *smartphones* e, por último, também relatamos os sensores autônomos (*stand-alone*). Um resumo dos trabalhos é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 – Trabalhos baseados em sensores SPR

Configuração experimental	Referência	Configuração SPR	Sensibilidade/Resolução	Plataforma	Observações
Montagem manual (Testes em Bancada)	Voichita <i>et al.</i> (2016)	WIN (Fibra óptica)	350 nm/RIU	<i>Raspberry Pi</i>	- Exibe a curva em um <i>Display</i> Touch-screen; - Armazenamento Interno; - <i>Raspberry Pi</i> 2;
	Gomez-Cruz <i>et al.</i> (2018)	LSPR (Nanoholes)	10^{-6} RIU	<i>Raspberry Pi</i>	- Partes impressas em impressora 3D; - Imagem por LSPR;
	Wang e al. (2019)	AIM (Prisma)	-	<i>Raspberry Pi</i>	- SPR image (SPRi); - Processamento digital de imagens;
	Vestri <i>et al.</i> (2020)	AIM (Prisma)	10^{-6} RIU	<i>Raspberry Pi</i>	- Exibição da curva no Display; - Tamanho: 30×30 cm;
	Nair <i>et al.</i> (2020)	Grade (SPRi)	-	<i>Raspberry Pi</i>	- Partes impressas em impressora 3D; - Tamanho reduzido: $2.5 \times 2.5 \times 10$ cm;
	Cennamo <i>et al.</i> (2015)	POF (Fibra óptica)	2×10^{-3} RIU	Arduino	- <i>Display</i> para exibir informações; - Fonte de alimentação acoplada;
	Sabarman <i>et al.</i> (2015)	AIM (Spreeta)	1.2×10^{-4} RIU	Arduino	- Configuração simples e não utiliza elementos ópticos; - Utiliza Spreeta 2000; - Precisa de um computador para processar, armazenar e exibir os dados adquiridos;
	Moreira (2016)	AIM (Prisma)	9.84×10^{-4} RIU	Arduino	- Resposta em tempo real; - Precisa de um computador para processar, armazenar e exibir os dados adquiridos;
	Laksono <i>et al.</i> (2018)	WIN (Prisma)	-	Arduino	- Precisa de um computador para processar, armazenar e exibir os dados adquiridos; - Filtragem de dados; - Ajuste automático de posição do sensor e prisma;

- : Não Informado

Tabela 2 – Trabalhos baseados em sensores SPR (Continuação)

Configuração experimental	Referência	Configuração SPR	Sensibilidade/ Resolução	Plataforma	Observações
Dispositivo integrado ao <i>smartphone</i>	Preechaburana <i>et al.</i> (2012)	AIM (Prisma)	2×10^{-6} RIU	<i>smartphone</i>	- Adaptável a qualquer <i>smartphone</i> ; - Dispositivo de medição descartável; - Dispensa uso de elementos ópticos adicionais;
	Souza Filho <i>et al.</i> (2014)	AIM (DOCE-Chip)	10^{-5} RIU	<i>smartphone</i>	- Precisa de um computador para processar, armazenar e exibir os dados adquiridos; - Dispensa uso de elementos ópticos adicionais; - Fabricado para ser utilizado em apenas um modelo de <i>smartphone</i> ;
	Bremer e Roth (2015)	POF (Fibra óptica)	5.96×10^{-4} RIU/Pixel	<i>smartphone</i>	- Potencial para integração em cases de <i>smartphones</i> ; - Dispensa uso de elementos ópticos adicionais; - Precisa de um computador para processar, armazenar e exibir os dados adquiridos;
Dispositivo autônomo (<i>stand-alone</i>)	Feltis <i>et al.</i> (2008)	AIM (Prisma)	3.3×10^{-6} RIU	PIC24F128 e PIC16F876A	- Medições em 10 minutos; - <i>Display</i> para exibir informações; - Precisa de um computador para processar, armazenar e exibir os dados adquiridos;
	Piliarik <i>et al.</i> (2009)	Grade (SPRCD)	3×10^{-7} RIU	Computador	- Sensibilidade alta; - Precisa de um computador para processar, armazenar e exibir os dados adquiridos;
	Hu <i>et al.</i> (2009)	AIM (Spreeta)	9.23×10^{-3} RIU	PIC24F128 e Spreeta TSPR1K23	- Medições em 5 minutos; - Controle de temperatura; - Spreeta RRSR1K23 ; - Custo alto (Spreeta custa cerca de \$2250 USD);
	Rampazzi <i>et al.</i> (2015)	LSPR (Fibra óptica)	6×10^{-5} RIU	ARM Cortex-M4	- Medições em tempo real; - Filtragem de dados; - Exibição de informações no display; - Armazenamento próprio;
	Trabalho proposto (2022)	AIM (PPBIO e DOCE-Chip)	120° /RIU, 10^{-6} RIU	<i>Raspberry Pi</i>	- Resposta em tempo real; - Filtragem de dados; - Controle de temperatura; - Armazenamento interno; - Interface dedicada ao usuário; - Partes impressas em impressora 3D; - $19.4 \times 20 \times 9$ cm

1.3 Estrutura do Trabalho

Este trabalho está dividido em cinco capítulos. O primeiro capítulo abordou os conceitos introdutórios relacionados ao tema e também as motivações e os objetivos deste trabalho. No Capítulo 2, são apresentados fundamentos teóricos necessários para o desenvolvimento da pesquisa. No terceiro capítulo, é descrita a proposta do sensor SPR e no Capítulo 4 são discutidos os resultados obtidos no trabalho. Por último, no quinto capítulo é apresentado as conclusões e as sugestões de trabalhos, os quais podem ser desenvolvidos futuramente.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

Neste capítulo, discutiremos brevemente sobre o histórico do fenômeno SPR e descreveremos alguns aspectos teóricos do fenômeno tais como definição, configurações e modelo de Fresnel.

2.1 Ressonância de plásmons de superfície

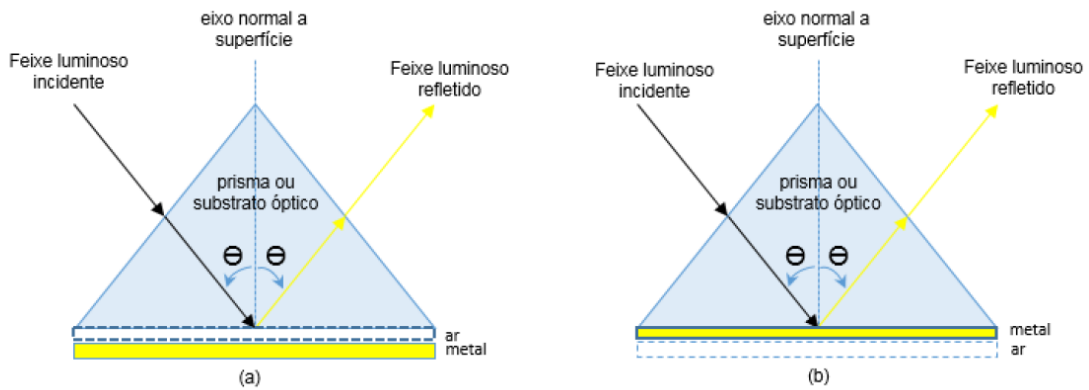
A primeira observação do efeito de ressonância de plásmons de superfície data de 1902, com o trabalho de Wood. Em seu trabalho, o autor percebeu que quando iluminava uma grade de difração com uma luz polarizada surgiam faixas escuras, o que foi considerada anomalia experimental.

Homola e Piliarik (2006) demonstrou que a redução da refletância para uma interface metal-dielétrico era causada pela interação entre os fótons de luz incidentes e as oscilações longitudinais dos elétrons na superfície do metal. O fenômeno decorrente dessa interação foi denominado de ressonância de plásmons de superfície (SPR, sigla em inglês para *Surface plásmons Resonance*).

No mesmo ano, Kretschmann e Raether propuseram outra configuração invertendo a posição das camadas do metal e dielétrico. Essa configuração foi denominada como estrutura de reflexão atenuada (do inglês, *Attenuated Total Reflection - ATR*) Kretschmann *et al.* (1968). As configurações propostas por Otto e Kretschmann *et al.* são muito utilizadas nos dias atuais em dispositivos SPR. Na Figura 2, pode-se observar a diferença entre as duas configurações citadas anteriormente.

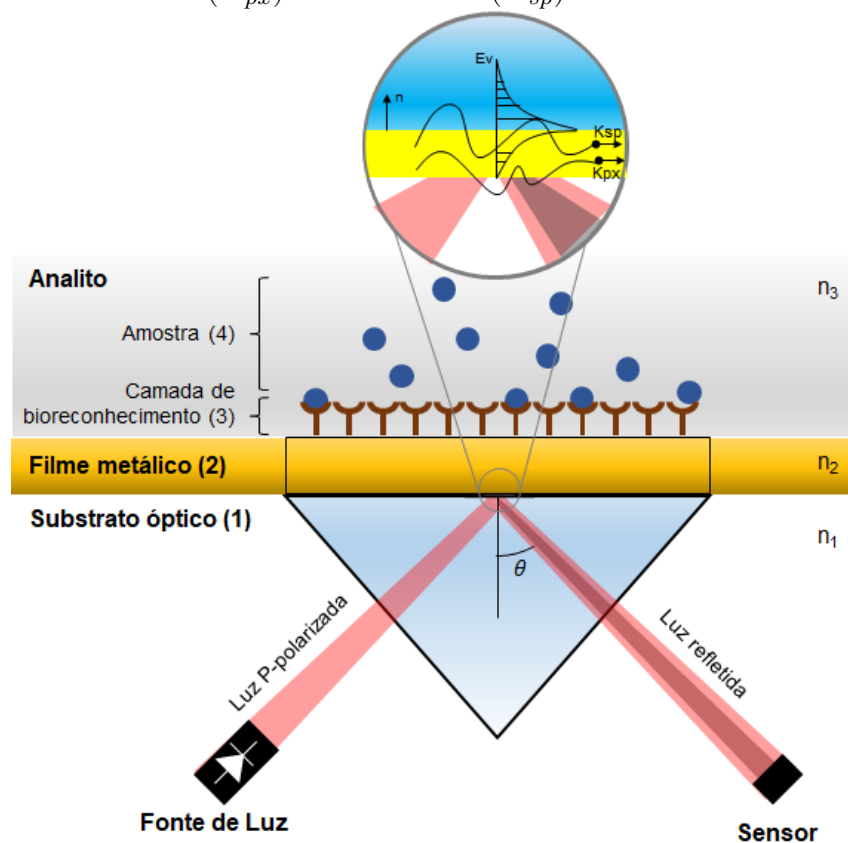
Na figura 2(a), é possível observar a utilização de uma camada dielétrica entre o metal e o prisma fazendo com que a onda de plásmons fique confinada nessa região. No modelo ilustrado na Figura 2(b), observa-se a configuração de Kretschmann-Raether, em que a camada do dielétrico vem depois da camada do filme metálico, fazendo com que a onda de plásmons fique confinada na região acima do metal.

Figura 2 – Configuração de excitação dos plásmons de superfície do sensor óptico multicamada SPR baseado em Otto (a) e Kretschmann *et al.* (b)



Fonte: Falqueto, (2019).

Figura 3 – Diagrama de blocos da configuração de Kretschmann em situação de ressonância: a onda de plásmons é excitada pelo campo evanescente (E_{ev}) gerando os vetores de luz incidente (K_{px}) e vetor de SP (K_{sp}).



Fonte: Adaptada de Oliveira, (2016).

Na estrutura ilustrada na Figura 3, quando um feixe luminoso incide sobre a superfície de um prisma com alto índice de refração, em uma situação ideal, essa energia

deveria ser refletida. Entretanto, Kretshmann-Raether e Otto verificaram que parte dessa luz é absorvida pelo metal-dielétrico e outra parte dela é refletida de volta para o prisma. Nessa situação, surge o campo evanescente E_{ev} e a energia luminosa interage com as ondas de plásmons de superfície (HOMOLA; PILIARIK, 2006; MOREIRA, 2010). Por meio dessa interação da onda eletromagnética com os materiais, observa-se a dispersão da onda de superfície de plasmas, provocando uma atenuação na reflexão. Essa situação corresponde ao fenômeno SPR e a faixa escura presente no feixe de luz refletido corresponde à transferência energia da onda luminosa incidente para a onda de plásmons de superfície. Esse efeito pode ser capturado por um sensor de imagem.

Em síntese, para que haja excitação SPR, algumas condições devem ser obedecidas: as ondas luminosas ser p-polarizadas de forma que o campo elétrico incida paralelamente ao plano de incidência; a onda luminosa deve incidir na interface na condição de reflexão interna total; a espessura da camada de metal deve ser inferior ao comprimento de onda incidente; a espessura da camada de metal deve ser inferior ao comprimento de onda incidente; o vetor do feixe luminoso incidente deve ser maior que o vetor de oscilação dos plasmas de superfície (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

Existem quatro modos de investigação do fenômeno SPR. Os dois mais utilizados são o modo de interrogação espectral (*WIM*, do inglês *Wavelength Interrogation Mode*) e o modo de interrogação angular (*AIM*, do inglês *Angular Interrogation Mode*) (MOREIRA, 2010). No modo de Interrogação Espectral, varia-se o comprimento de onda da luz e o ângulo de incidência se mantém inalterado. Portanto, a fonte luminosa deve ser policromática, fazendo-se a detecção do sinal refletido por meio de um espectrômetro. Já no modo de Interrogação Angular, que é utilizado neste trabalho, a variação ocorre no ângulo de incidência do feixe de luz e o comprimento de onda é mantido constante. Como a fonte luminosa é monocromática, uma câmera pode ser utilizada como elemento detector.

2.2 Equações de Fresnel

As equações de Fresnel apresentam um modelo matemático que permite descrever a excitação óptica e analisar o comportamento do fenômeno SPR.

Considerando o modelo do sensor SPR apresentado na Figura 3 composto por uma pilha de quatro camadas de materiais distintos com índices de refração e espessuras

diferentes, até atingir todas as camadas, o feixe de luz incidente sofre várias reflexões. Essas reflexões devem ser consideradas para o cálculo de reflexão total.

O biossensor de m camadas tem seu comportamento descrito pelos valores de admitância β_j e do deslocamento de fase q_j . Estes são representados pelas equações (2.1) e (2.2).

$$\beta_j = \frac{2\pi d_j \sqrt{m_j^2 - [n_1 \sin(\theta_1)]^2}}{\lambda} \quad (2.1)$$

$$q_j = \frac{\sqrt{n_j^2 - [m_1 \sin(\theta_1)]^2}}{n_j^2} \quad (2.2)$$

em que n_j , θ_1 e λ são variáveis do meio j e representam, respectivamente, os índices de refração complexo dos meios 1, 2 e 3, o ângulo crítico e o comprimento da luz de incidência da luz que se propaga no meio.

A formulação da matriz de transferência (M_j) para a propagação da onda do meio j para o meio $j+1$ é dada pela equação (2.3):

$$M_j = \begin{bmatrix} \cos(\beta_j) & \frac{-i \sin(\beta_j)}{q_j} \\ -i q_j \sin(\beta_j) & \cos(\beta_j) \end{bmatrix} \quad (2.3)$$

Desta forma, após a obtenção da matriz individual em cada meio, é possível obter a matriz de transferência total (M_{tot}):

$$M_{tot} = \prod_{j=2}^{m-1} M_j = \begin{bmatrix} m_{11} & m_{12} \\ m_{21} & m_{22} \end{bmatrix} \quad (2.4)$$

Para finalizar, a partir das equações (2.2) e (2.4), pode-se calcular os coeficientes de Fresnel das estruturas multicamadas: o coeficiente de reflexão R e os coeficientes de transmissão (T).

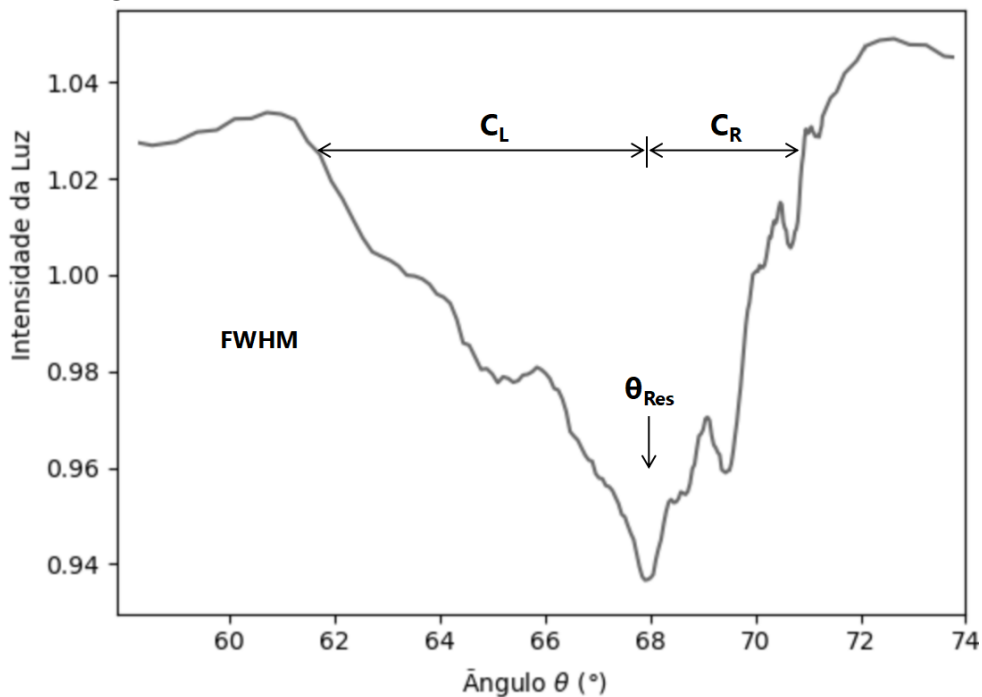
$$R = \frac{(m_{11} + m_{12})q_1 - (m_{21} + m_{22})q_m}{m_{11} + m_{12}q_m q_1 + (m_{21} + m_{22})q_m} \quad (2.5)$$

$$T = \frac{2q_1}{m_{11} + m_{12}q_m q_1 + (m_{21} + m_{22})q_m} \quad (2.6)$$

2.3 Análise da curva

A análise morfológica da curva SPR é realizada com o intuito de expandir e aprimorar as funcionalidades nos biossensores de ressonância de plásmons de superfície. Procura-se identificar possíveis modificações no formato da curva SPR em decorrência de variações na camada sensível. Tais modificações são oriundas da adsorção ou remoção de substâncias, que podem ocasionar uma alteração na espessura da camada, e de alterações no índice de refração.

Figura 4 – Análise da curva característica do fenômeno SPR



Fonte: Autoria própria (2022).

A Figura 4 ilustra o gráfico obtido por meio da análise de Fresnel. O valor mínimo da curva SPR, identificado por θ_{RES} , indica a condição de ressonância da curva. Os valores C_R e C_L são calculados no ponto médio entre o valor máximo e mínimo da curva (*FWHM*, do inglês *Full Width at Half Maximum*). Esses valores representam a distância em graus (modo AIM) ou nanômetros (modo WIN) entre o mínimo da curva e as bordas direita e esquerda, respectivamente (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Após obtenção desses valores, é possível calcular os valores de largura e assimetria da curva, representados pelas equações (2.7) e (2.8):

$$Largura = c_R + c_L \quad (2.7)$$

$$Assimetria = \frac{c_R}{c_L} \quad (2.8)$$

2.3.1 Calibração

A normalização da curva SPR é realizada através de um processo chamado de calibração do instrumento. Esse processo é utilizado para compensar a distribuição espectral da luz desigual no sistema (PILIARIK *et al.*, 2009). Nesse processo, utilizamos um sinal como referência obtido quando a célula de fluxo está vazia, ou seja, o sinal é correspondente ao Ar ($S(n)_{Air}$). Em seguida, é depositado analito na célula de fluxo e inicia-se o monitoramento da parte sensível ($S(n)_{Analyte}$).

$$SPR_{Curve} = \frac{S(n)_{Analyte}}{S(n)_{Air}} \quad (2.9)$$

2.3.2 Suavização da Curva SPR

A câmera que realiza a aquisição de imagens é afetada por fontes de ruído que prejudicam a qualidade do sinal e comprometem a precisão do equipamento (FILHO *et al.*, 2017). Para reduzir o efeito do ruído presente no sinal de imagem utilizado para gerar a curva SPR, é necessário realizar o pré-processamento deste sinal. Esse processo tem como intuito o melhoramento da qualidade do sinal captado a partir de técnicas de suavização da imagem. Neste trabalho, serão discutidos três filtros: a média móvel, mediana e gaussiano.

O filtro média-móvel considera um conjunto de pixels ao redor de um pixel central. Portanto, o novo valor do pixel será a média da sua vizinhança gerando a suavização por completo na imagem. Se tivermos $X_n = x_1, x_2, \dots, x_w$ como valores de pixels, é possível gerar um novo sinal em que suas amplitudes serão definidas pela média de L pixels na vizinhança do pixel atual (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

$$Y_n = \frac{x(n)_1, x(n)_2, \dots, x(n)_w}{L} \quad (2.10)$$

Um dos filtros não-lineares mais importantes é o filtro de mediana. Esse filtro consiste em substituir a intensidade de cada pixel pela mediana das intensidades da vizinhança do pixel. O valor da intensidade de pixels vizinhos deve ser semelhante nas imagens, pois não é comum existirem grandes variações nos níveis de cinza em distâncias pequenas de uma imagem (FILHO, 2006).

Outro filtro muito utilizado é o gaussiano. Este filtro funciona como um filtro passa-baixa e consegue reduzir o nível de ruído de um sinal de entrada, reduzir as distorções na imagem e detalhes. A equação que rege a função gaussiana 2D de média zero é exposta em 2.11.

$$g(x, y) = \frac{1}{2\pi\sigma} e^{-\frac{x^2+y^2}{2\sigma^2}} \quad (2.11)$$

em que:

σ - Desvio

2.3.3 Algoritmos para Detecção do valor mínimo da curva

Os algoritmos atuais de detecção do ângulo de ressonância do fenômeno SPR têm sido alvo de diversos estudos. A precisão da medição do índice de refração da substância analisada está diretamente relacionada à qualidade do sinal da imagem adquirida e à escolha do método de obtenção do ângulo de ressonância. Dado isso, a utilização da técnica de análise apropriada é determinante para otimização do limite de detecção e também para obtenção uma melhor resolução do índice de refração.

Fatores, como ruído, variação da fonte de luz, e o sistema de captura de imagem restringem a exatidão da variação do ângulo de ressonância. Tendo isso em vista, a fim de minimizar a influência de ruídos existentes na curva SPR e otimizar a procura pelo valor mínimo da curva, nessa seção serão abordados algoritmos para detecção do ângulo de ressonância. Os algoritmos abordados são: caça ao mínimo, centroide com linha de base fixa e centroide com bordas fixas, interpolação polinomial e ajuste Lorentziano.

Caça ao Mínimo

De acordo com Nenninger *et al.* (2002), OLIVEIRA *et al.* (2011), o método caça ao ponto mínimo (do inglês, *minimum hunt*) fundamenta-se em um algoritmo simples, que busca o menor valor da curva SPR.

Primeiro Momento

O método conhecido como centroide, também chamado de primeiro momento, determina o parâmetro de ressonância através do cálculo do centro de gravidade da curva SPR. Esses algoritmos consideram apenas os *pixels* com valores de reflectância abaixo de um limite (SOUSA *et al.*, 2014). A qualidade da técnica de detecção está diretamente ligada à qualidade da seleção destes dados. Neste trabalho iremos discutir duas formas de seleção: centroide com linha de base fixa e centroide com bordas fixas.

No algoritmo centroide com linha de base fixa, representado pela equação (2.12), os pixels são definidos por uma linha de base fixa ($R_{baseline}$) através da equação abaixo, na qual i representa um valor de pixel; i_j é o pixel inicial e i_n o final; R significa o valor do pixel do espectro i :

$$Pixel_{resonance} = \frac{\sum_{i_1}^{i_2} i(R_{baseline} - R_i)}{\sum_{i_1}^{i_2} (R_{baseline} - R_i)} \quad (2.12)$$

O algoritmo do centroide com borda fixa é considerado como um método que calcula com rapidez o ponto mínimo da curva SPR. *Pixels* fixos de início e fim são usados para definir os limites verticais que cruzam o espectro SPR e o eixo do pixel. O ponto de ressonância é dado pela seguinte equação (2.13):

$$Pixel_{resonance} = \frac{\sum_{i_1}^{i_2} iR_i}{\sum_{i_1}^{i_2} R_i} \quad (2.13)$$

Interpolação Polinomial

Esse método reduz o ruído para a definição do valor mínimo da curva e do ângulo de ressonância. Além disso, é menos propenso à alteração da intensidade da fonte de luz, possibilitando uma interpolação entre os pontos do sinal medido (FILHO *et al.*, 2017). O método de ajuste polinomial fundamenta-se em aproximar a curva SPR a um polinômio de grau p . Para tal, estima-se um polinômio de grau p por meio do método dos mínimos quadrados, com o objetivo de obter uma função polinomial semelhante ao conjunto de pontos da curva (FILHO, 2006).

Aproximação Lorentziana

A função Lorentziana, ou também conhecida como distribuição de Lorentzian ou Cauchy-Lorentz, é uma função de pico único dada pela equação (2.14):

$$L = y_0 + 2 \frac{A}{\pi} \frac{w}{4(x - x_c)^2 + w^2} \quad (2.14)$$

Em que A representa a área, w é a largura, x_c é o centro da curva e y_0 é o deslocamento dos valores Y . Os algoritmos descritos nesta seção são ilustrados a seguir:

2.3.4 Relação pixel-ângulo

Em ordem de obter a resposta do sensor em termos do ângulo, é necessário realizar a correspondência entre os pixels da câmera e os valores que correspondem de ângulo com base no ponto de operação (OP). De acordo com Oliveira *et al.* (2015), para obter o espectro angular, primeiro deve-se observar na imagem correspondente a célula úmida, o número do pixel em que ocorre a ressonância. Em seguida, são coletados os ângulos máximo e mínimo e, também, os limites geométricos da instrumentação do sensor. Após obtenção desses valores, pode-se aplicar a equação de regressão de rotina correspondente.

2.4 Resumo

Neste capítulo, foram apresentados os conceitos fundamentais para o entendimento e realização deste trabalho. Inicialmente, foram discutidos os princípios e as condições necessárias para que a Ressonância de Plásmons de Superfície aconteça. Em seguida, foram elencados métodos pré-processamento da imagem, algoritmos para extração de parâmetros da curva SPR tais como métodos para detecção do ponto de ressonância, largura e assimetria, técnicas de suavização da curva SPR e a relação pixel-ângulo.

3 METODOLOGIA

Em ordem de atingir os objetivos propostos, neste capítulo é abordada a estrutura de desenvolvimento do sensor dividida em quatro etapas: planejamento e análise de requisitos, design do projeto, implementação física do protótipo e validação. A metodologia utilizada para desenvolvimento deste trabalho seguiu os passos indicados na Figura 5 e é detalhada a seguir:



Fonte: Adaptada de (WOLF, 2012).

- **Análise de requisitos e especificações do projeto:** Antes de projetar um sistema, é necessário saber o que estamos projetando (WOLF, 2012). Dessa forma, para a construir qualquer equipamento, é indispensável definir o que este deve fazer, antes mesmo de definir como irá fazer. O resultado desse levantamento é expresso na forma de requisitos e especificações que visam definir o comportamento do equipamento, ou seja, o que o sensor deve fazer e sob quais restrições operacionais deve atuar. Além disso, é importante definir e estabelecer uma estratégia para sua construção.
- **Design do projeto:** Nesta seção, iremos definir como vamos transformar as especificações dos requisitos em um projeto de arquitetura. Nesta etapa, o modelo da solução a ser utilizada no projeto é definido e avaliado. É comum, em sistemas embarcados, a necessidade de desenvolver o hardware, *software* e também projetar a estrutura mecânica. Cada um desses componentes pode ser modelado de forma individual, de modo a evitar possíveis erros na fase de implementação e atender as especificações do sistema. Após a conclusão de cada componente, os projetos são integralizados para compor o sistema embarcado.
- **Construção do protótipo:** Uma vez concluída a fase de *design* do projeto, o

próximo passo é realizar a integração e unir as três frentes principais: o projeto do *software*, de hardware e de estrutura mecânica. O objetivo dessa fase é construir um protótipo físico funcional.

- **Testes e validação:** Nessa fase, são avaliados o desempenho e as funções do sistema, visando garantir que o projeto está de acordo com as especificações.

Ao final dessa atividade, os artefatos/módulos do sensor podem passar por um processo de refinamento. Nesse sentido, o sensor pode passar por melhorias e ser construído várias vezes. Um primeiro sistema é usado como um protótipo bruto e os modelos sucessivos do sistema são ainda mais refinados Wolf (2012).

3.1 Análise de requisitos e especificações do projeto do sensor SPR

A primeira fase do desenvolvimento do sensor é a definição, análise e levantamento de requisitos do projeto. Para tal, inicialmente, foi realizada uma pesquisa bibliográfica dos trabalhos relacionados ao que se planeja desenvolver, visando verificar as principais tendências e investigar possíveis lacunas nesses trabalhos. Estes estudos foram analisados e discutidos na seção 1.2.

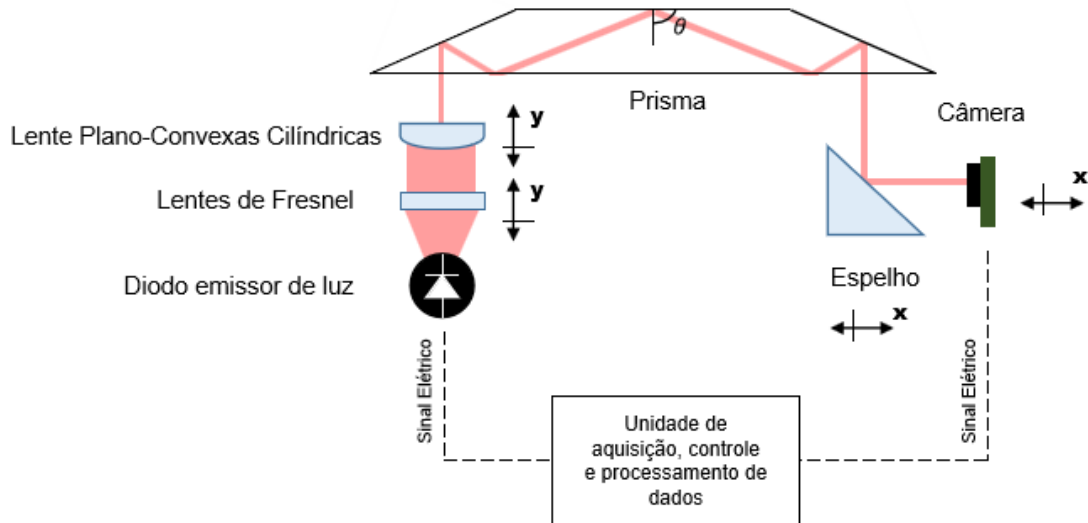
Dado os objetivos propostos e o estudo apresentado no capítulo 2, verificamos que um (bio)sensor baseado no fenômeno SPR no modo AIM e na configuração de *Kretschman* requer basicamente uma fonte de luz, elementos ópticos, sensor para captar o feixe de luz (câmera, fotodetector, CMOS, CCD etc), unidade de processamento e interface homem-máquina para que o usuário possa interagir com o sensor.

Essa configuração, ilustrada nas Figuras 6 e 7, é composta por um diodo que emite um feixe de luz com direção a uma das faces do *biochip*. A fim de convergir os raios de luz emitidos pelo diodo e concentrá-los em uma única direção, são utilizadas lentes. A luz incide no *biochip* perpendicularmente, o feixe de luz é refletido internamente e excita o fenômeno de ressonância de plásmons de superfície. Por último, o sinal de saída é refletido por um espelho que tem seu sentido alterado para ser adquirido pela câmera.

Devido às limitações geométricas dos *biochips* PPBIO e DOCE, dos componentes ópticos e eletrônicos, alguns ajustes posicionais dos elementos (lentes, câmera e espelho) devem ser realizados para garantir a colimação, convergência dos feixes de luz e o alinhamento dos mesmos. Além do uso do espelho para refletir o sinal oriundo do *biochip* para a câmera, foi incluso um sistema de movimentação para as lentes, espelho e câmera.

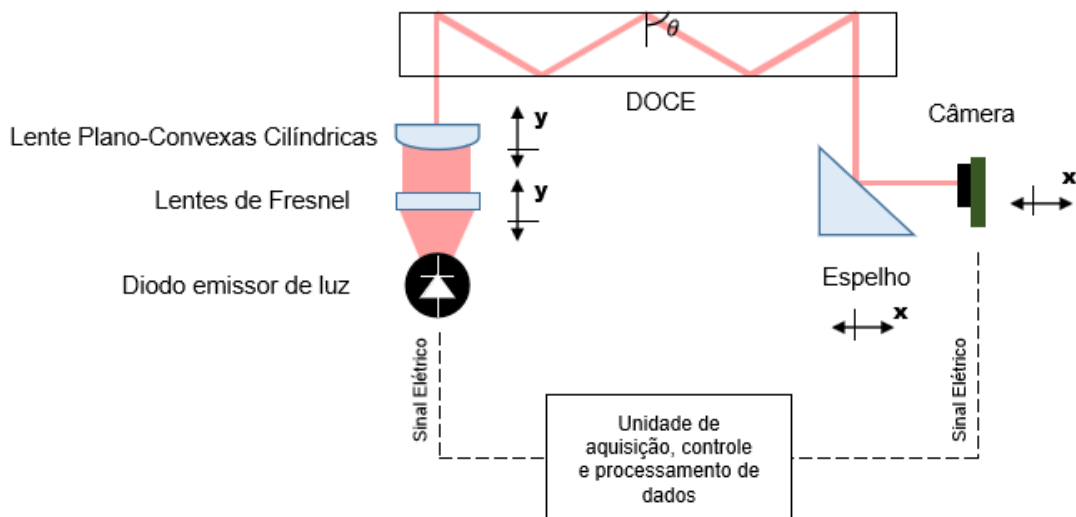
As lentes podem se movimentar no eixo vertical (para cima e para baixo) enquanto o espelho e câmera podem se movimentar no eixo horizontal, os demais componentes têm posição fixa. Essa configuração é ilustrada nas Figuras 6 e 7.

Figura 6 – Diagrama de Blocos baseado na configuração de Kretschman para o Modo AIM — PPBIO.



Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 7 – Diagrama de Blocos baseado na configuração de Kretschman para o Modo AIM — DOCE.

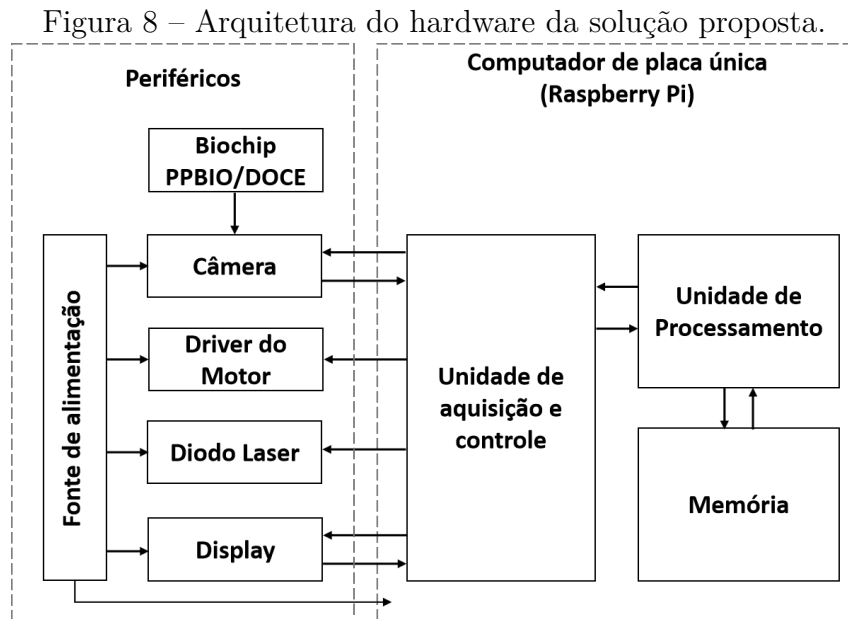


Fonte: Autoria própria (2022).

Uma vez definida os componentes mínimos para confecção do sensor, é descrito, em detalhes, o sensor proposto.

3.1.1 Hardware

Neste projeto, é realizada a aquisição, controle e processamento de sinais, bem como o controle de periféricos. Para isso, optou-se por utilizar um computador de placa única (do inglês, *single-board computer* ou SBC) dado o seu poder de processamento e o seu custo acessível. O *hardware* pode ser dividido em duas partes principais: computador de placa única e os periféricos. Os periféricos, no que lhe concerne, são divididos em motores, câmera, diodo *laser* e *display*. A arquitetura do *hardware* é ilustrada na Figura 8.



O SBC surgiu nos últimos anos como plataforma de prototipagem de baixo custo, tamanho reduzido e com capacidade de processamento elevada, conseguindo realizar atividades até com processamento de imagens. Atualmente, existem algumas alternativas no mercado tais como o *Raspberry PI*, *BeagleBone Black*, *Gumstix*, entre outras com especificações similares.

O *Raspberry Pi Foundation* lançou, em 2011, o seu primeiro computador de placa única (SBC). O computador foi desenvolvido para propósitos educacionais, com o tamanho de um cartão de crédito e um processador ARM11 de 1 GHz. A plataforma roda uma versão de distribuição do Linux que permite a compilação e uso de bibliotecas de visão bem conhecidas como o *OpenCV* (HULENS *et al.*, 2015). Mesmo que a velocidade de processamento do SBC seja limitada, isso não impede que a plataforma rode algoritmos de visão computacional em tempo real. Além da plataforma ser fácil de usar, o *Raspberry*

Pi é compatível com câmera e também possui uma barra de *GPIO* (*General Purpose Input and Output*), que permite controlar dispositivos externos. Neste aspecto, este trabalho visa a utilização da plataforma *Raspberry Pi 3* versão B.

A Interface com o Usuário é a parte do sistema que fica visível e permite que o usuário possa se interagir com a máquina para realizar suas tarefas. Atualmente, visando tornar a interação com o usuário mais natural e amigável, muitas das telas disponíveis no mercado são confeccionadas a partir da tecnologia *touchscreen* para entrada de informações. O *Display Raspberry Pi touchscreen 7* permite interação com o usuário através de uma tela sensível ao toque de 800×480 pixels de resolução e dispensa o uso de teclado e mouse adicionais no projeto.

Para realizar a aquisição de dados, utilizaremos uma câmera bidimensional para adquirir imagens estáticas. A câmera bidimensional permite a possibilidade de suavização e de medição de múltiplas substâncias (*multispot*). Dessa forma, para este projeto escolhemos a Câmera *Raspberry PI v2.1* para realizar a aquisição de imagens. Esta câmera tem resolução de 8MP, conta com um sensor *Sony IMX219* e lente de foco fixo *on-board*, sendo capaz de captar imagens estáticas de até 3280×2464 pixels (RASPBERRY, 2018). Esse componente é compatível ao *Raspberry Pi* e eles se conectam por meio de um dos soquetes pequenos na superfície superior da placa.

Conforme visto anteriormente, para realizar a excitação do efeito SPR é necessária a utilização de um feixe de luz com comprimento específico. Em seus experimentos, Oliveira *et al.* (2015) utiliza um Prisma PPBIO com filme de ouro e um diodo *laser* com comprimento de onda de 670 nm para excitar o efeito SPR. Neste projeto, é utilizado o diodo *laser* Oclaro HL6748MG com comprimento de onda de 670nm e 10mW de potência, fornecidos pela *Thorlabs*.

Como os feixes de luz que saem do diodo *laser* são altamente divergentes, para ser fornecido um sinal luminoso ideal para excitar o efeito SPR, é importante, utilizarmos lentes para colimação deste feixe de luz.

Como podemos perceber através da Figura 9 e 10, o espaço disponível para instalar os componentes é um fator limitador para esse projeto. Dessa forma, optou-se pela utilização de lentes de tamanho reduzido como as lentes de fresnel e as lentes plano-convexas cilíndricas.

Para o *set-up* óptico empregam-se alguns materiais fornecidos pela *Thorlabs*:

Figura 9 – Detalhamento técnico e dimensões do Prisma PPBIO.

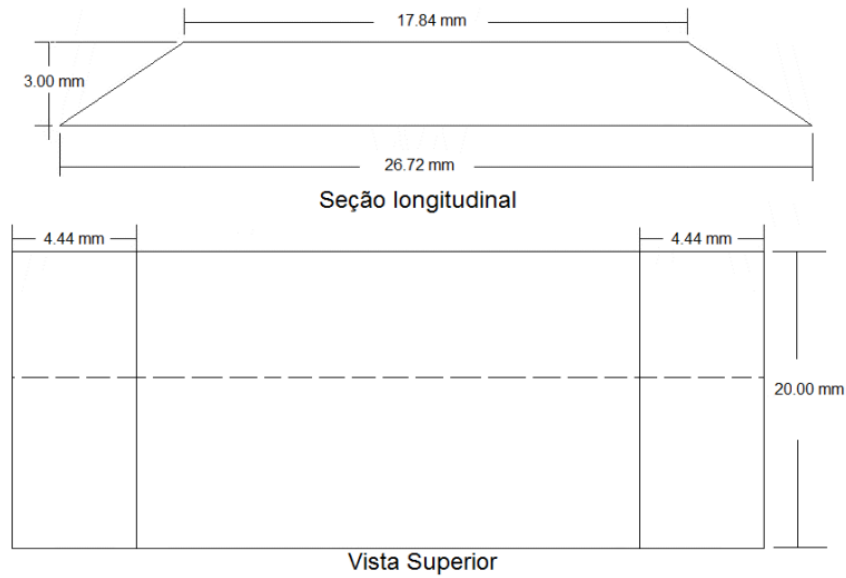
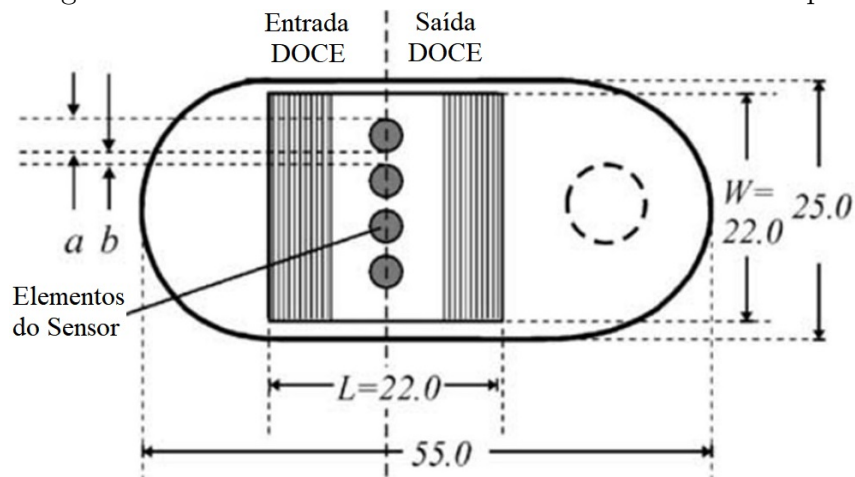


Figura 10 – Detalhamento técnico e dimensões do Virchip.



Fonte: Adaptado de Thirstrup *et al.* (2004)

uma lente de Fresnel FRP0510 e uma lente plano convexo cilíndrica de vidro N-BK7 LJ1960L1. Também é utilizado um espelho para refletir o feixe de luz para a câmera.

Ainda observando as Figuras 9 e 10, percebemos que as dimensões dos *chips* PPBIO e DOCE diferem. Por isso, conforme observado anteriormente, para garantir a colimação e convergência dos feixes de luz e o alinhamento dos elementos do sistema, é necessário realizar um ajuste preciso de posição. Para atingir esse objetivo, o protótipo terá um sistema de movimentação e ajuste da posição dos elementos ópticos no eixo horizontal e vertical. Esse sistema deve garantir o alinhamento entre as peças e também realizar a movimentação dos componentes ópticos de forma precisa e suave. Nesta solução, iremos utilizar o motor de passo retirado da sucata de um DVD *player*. As dimensões do componente são de aproximadamente $15 \times 14.5 \times 88$ mm, pesa cerca de 40 g, apresenta

baixo consumo de energia e movimentação linear com resolução de 0.5 *mm*.

3.1.2 Software

Conforme apresentado na seção anterior, neste trabalho é utilizado um *SBC* para controlar os componentes eletrônicos, bem como realizar a aquisição e processamento de dados em tempo real. Para isso, utilizaremos um algoritmo baseado na linguagem de programação *Python*.

Considerando as especificações do projeto levantados na seção 3.1, o algoritmo do *software* deve conseguir excitar o efeito SPR e realizar algumas tarefas:

- Adquirir imagens e processar os dados de modo a obter as seguintes informações:
 - Curva SPR;
 - Parâmetros de assimetria, largura e ponto mínimo;
 - Obtenção do sensorgrama;
- Realizar o pré-processamento do sinal de imagem bruto adquirido de modo a reduzir o ruído utilizando as técnicas de suavização como média e mediana;
- Implementar técnicas de análise para encontrar o ângulo de ressonância;
- Conseguir controlar o diodo *Laser*;
- Realizar o armazenamento de dados;
- Comunicar com a interface do usuário, exibir os resultados do processamento de dados e permitir a interação do usuário com o sistema;

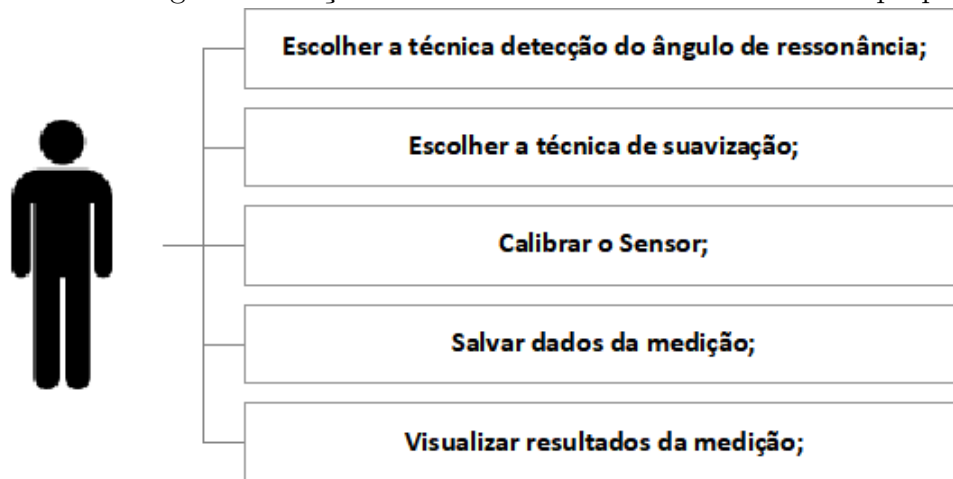
O usuário pode interagir com a interface gráfica do sensor e requisitar ações de acordo com suas necessidades. Estas ações são ilustradas na Figura 11

3.1.3 Estrutura Mecânica

Uma vez apresentada a configuração do AIM, deve-se atentar para a necessidade de implementar uma estrutura simples, flexível e portátil em que seja possível utilizar dois *biochips*: o chip fino (DOCE) e o chip espesso (PPBIO).

Como evidenciado na seção anterior, a estrutura da *Case* será construída considerando a arquitetura de *Kretschmann* e as dimensões do biochip PPBIO e DOCE-chip. Para isso, a estrutura deve promover o correto alinhamento entre os elementos ópticos, o diodo *laser* e *biochip* para haver a excitação do SPR no modo AIM. O sistema também deve estar alinhado à câmera para ser possível adquirir imagens do fenômeno

Figura 11 – Diagrama de ações do usuário na interface de software proposta.



Fonte: Autoria própria (2022).

SPR e posteriormente seu processamento.

Além disso, também será modelado uma célula de fluxo para ser acoplada às duas categorias de *biochips* (fino e espesso). A célula é composta por dois orifícios na parte superior nos quais é permitido inserir/remover fluidos na célula, canais cuja função é direcionar o fluido a ser analisado e depositá-lo no filme metálico de ouro, possibilitando assim a análise em tempo real.

O projeto da estrutura mecânica também deve prever pontos de fixação para os equipamentos de ajuste mecânico dos componentes ópticos (lentes de Fresnel e lente cilíndrica) e um sistema de ajuste de posição das lentes. Esse sistema de movimentação linear das lentes poderá ser realizado de forma manual. Para isso, o sistema de movimentação utilizará barras lisas e um eixo roscado para garantir o alinhamento e movimentação dos componentes acoplados. Deve haver uma distância entre o diodo *laser* e o *biochip* de cerca de 70 milímetros para permitir movimentação das lentes no eixo *Z*.

4 RESULTADOS

Neste capítulo, descreve-se a solução proposta para implementar o biossensor baseado no efeito de ressonância de *plásmons* de superfície. Na seção 4.1, é apresentado a estrutura física mecânica e na seção 4.2 é descrito o *hardware* do sensor SPR. Por fim, na seção 4.3 é descrito o *software* que realiza a aquisição e processamento de dados e também é responsável pela interação com o usuário.

Diante do estudo realizado na seção 1.2 e dos requisitos definidos, foi projetado um sensor portátil e flexível para ser utilizado com o *biochip* PPBIO. Este projeto está disponível no apêndice A. Entretanto, realizando testes prévios no modelo proposto foram identificados alguns problemas:

- Dado que o *Display Nextion* NX4832t035 se comunica com o *Raspberry Pi* via interface RS485, a velocidade de transmissão de dados foi considerada lenta, visto que a transmissão e exibição de dados para o usuário leva cerca de 5 segundos. Dessa forma, essa tela inviabiliza as medições rápidas e em tempo real.
- Falta de espaço para incluir componentes eletrônicos e mecânicos;
- Falta de ventilação nas partes internas do sensor e, conseqüentemente, aquecimento dos componentes eletrônicos.

Dessa forma, a partir dos problemas identificados, resolveu-se projetar um novo *design* estrutural para o sensor, substituindo o *display Nextion* por outro *display* LCD de 7" que fornece visualização em tempo real e fabricado pela própria *Raspberry Pi*. Além disso, também foi adicionado um *Cooler* para realizar o resfriamento das partes eletrônicas. As modificações no projeto são descritas nas seções seguintes.

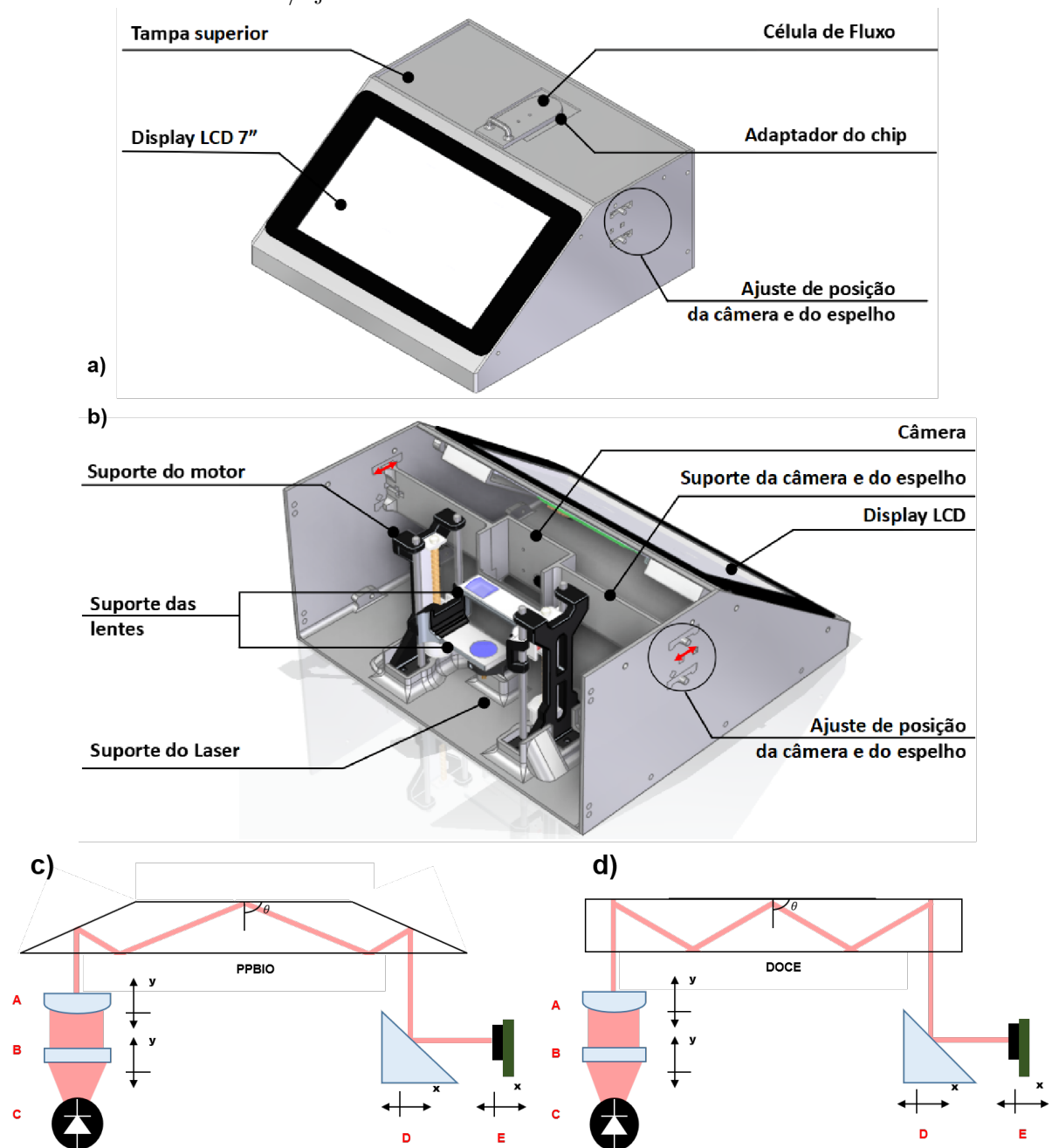
4.1 Estrutura mecânica

Nesta seção, são enumeradas as atividades executadas para alcançar os objetivos propostos neste trabalho, o qual é a construção de uma solução portátil embarcada de um sensor SPR. Este projeto se divide em duas frentes principais: o *design* do projeto e a confecção de peças utilizando uma impressora 3D.

Diante das especificações sugeridas, a estrutura do sensor foi projetada e desenvolvida baseado na premissa de que deveria ser portátil, flexível e adaptável a duas categorias de *biochips*: o chip da DOCE e PPBIO. O projeto mecânico baseia-se nas

seguintes partes: Case principal, tampa traseira, tampa superior, adaptadores para os *biochips*, células de fluxo, suportes e sistema de movimentação. O protótipo completo modelado em 3D é ilustrado na Figura 12.

Figura 12 – a) Estrutura mecânica do Sensor SBC-SPR composto pela caixa principal (chassis), tampas traseira e superior. b) Indicação das partes internas. A finalidade de cada elemento é indicada. Diagrama para a excitação SPR com c) PPBIO e d) biochips DOCE. São descritos os elementos e os respectivos movimentos/ajustes necessários.



PEÇAS E MOVIMENTAÇÃO

A - LENTES CILINDRICAS (1D) B - LENTE COLIMADORA (1D) C - DIODO LASER (FIXO) D - ESPELHO (FIXO) E - CAMERA (FIXO) F - BIOCHIP (FIXO)

Fonte: Autoria própria (2022).

Para realizar o projeto foi utilizado o *software* da *Dassault Systèmes*, o *SolidWorks*. Este *software* permite criar protótipos bidimensionais (2D) e tridimensionais (3D) e auxilia na criação de projetos com ênfase em reduzir o ciclo de desenvolvimento do produto.

4.1.1 Case

Esta estrutura é a base em que são instalados os componentes óticos, os *biochips* PPBIO e DOCE, a célula de fluxo, e os elementos mecânicos e eletrônicos necessários para realizar a excitação de plásmons de superfície e a aquisição dos dados de imagem.

A case foi projetada com foco na obtenção de um *design* pequeno e portátil. Considerando os requisitos elencados na seção 3.1 e as distâncias óticas exigidas, nesta seção é proposto o modelo estrutural para a case. A plataforma apresenta dimensões de cerca de $194 \times 200 \times 90$ mm.

Conforme é ilustrado na Figura 12b), com exceção do *display*, as células de fluxo, os *biochips* DOCE e PPBIO e seus respectivos suportes, boa parte dos componentes são instalados na parte interna da case e não são acessíveis ao usuário. Para alternar entre as configurações PPBIO e DOCE, deve-se ajustar a região de interesse da câmera. Para isso, o usuário deve movimentar o suporte da câmera para direita ou esquerda e, assim, ajustar a posição da câmera e do espelho.

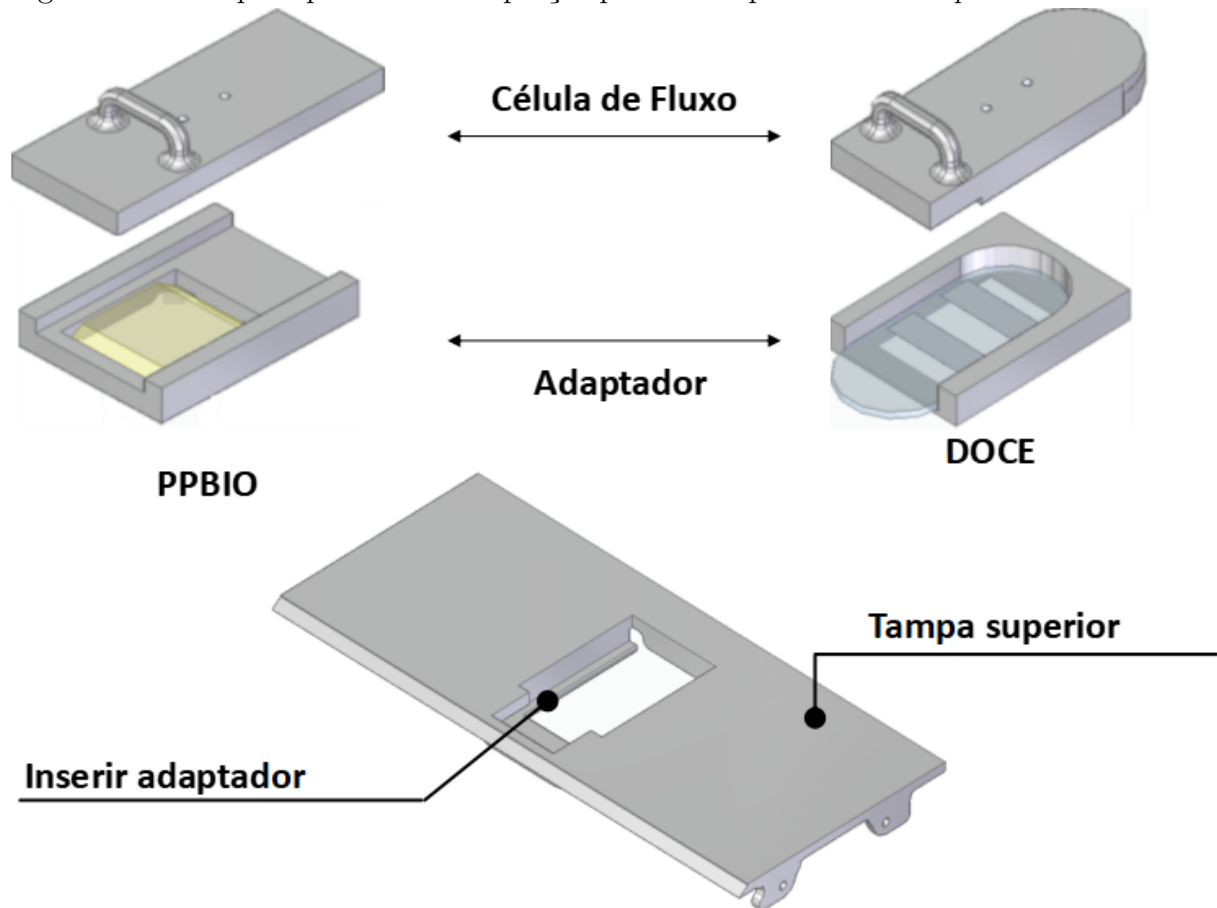
A célula de fluxo é acoplada à superfície do biochip e este é acoplado ao seu respectivo adaptador. Este acoplamento, bem como sua estrutura, será discutido na próxima seção. Também foram construídos acoplamentos para o diodo *laser* e do *display* na própria case e também para dar suporte aos adaptadores do biochip, do suporte da câmera e dos motores.

4.1.2 Adaptadores e Célula de Fluxo

Conforme citado em seções anteriores, os *biochips* espesso (PPBIO) e o *biochip* fino (DOCE) tem dimensões e formatos diferentes. Para ser possível utilizar as duas configurações de *biochips*, foram projetados dois adaptadores. Para haver a excitação do fenômeno SPR, foram projetados furos passantes nos adaptadores. Esses furos permitem que o feixe de luz advindo do *diodo* laser incida perpendicularmente à base inferior do *biochip*. Nessa configuração, *biochips* são inseridos em seu respectivo adaptador e, em

seguida, o conjunto é acoplado na cavidade da tampa superior, conforme é ilustrado na Figura 13.

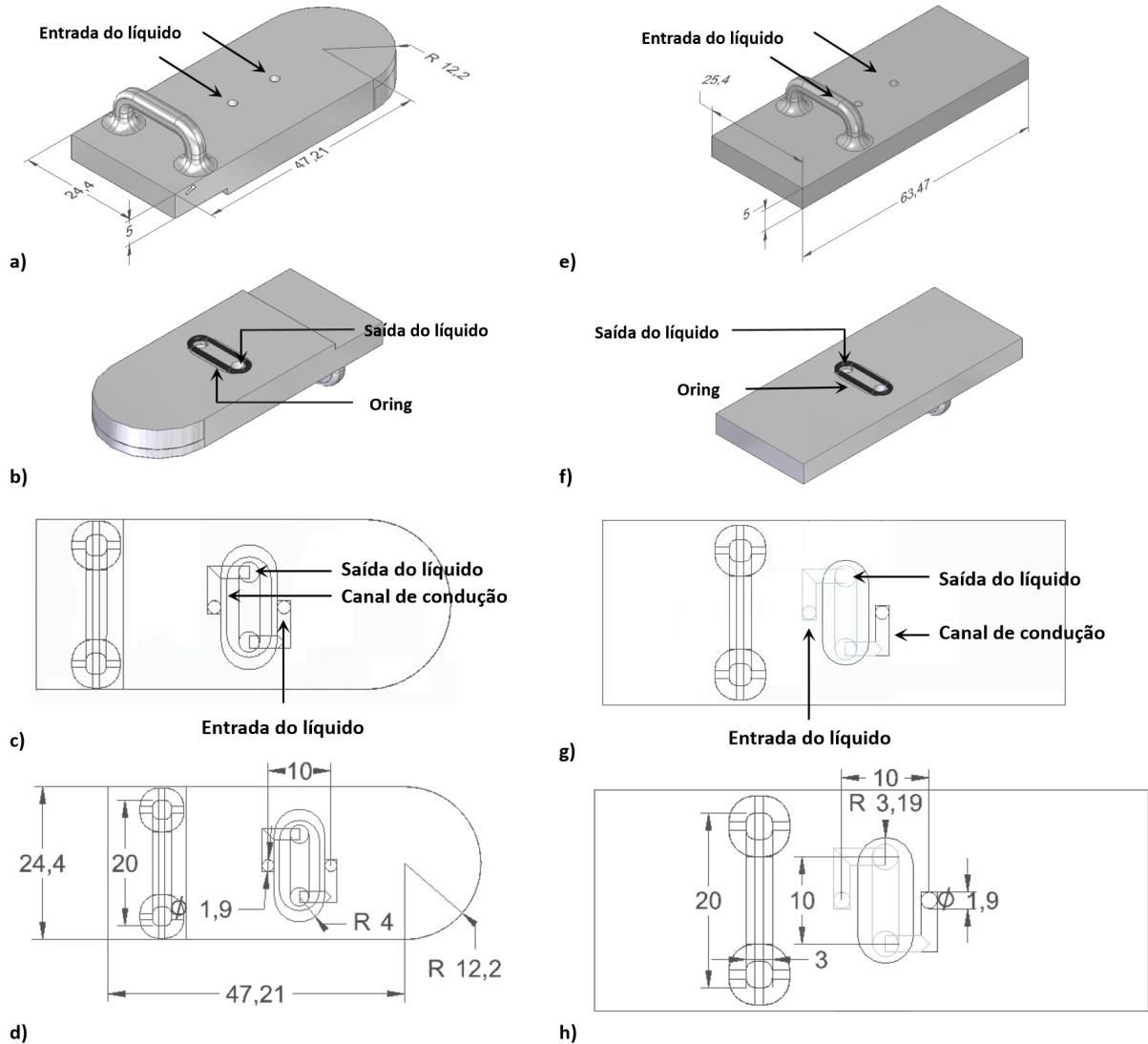
Figura 13 – Tampa superior com adaptação para dar suporte aos *biochips* PPBIO e DOCE.



Seguindo o mesmo raciocínio, em ordem de injetar o analito na superfície metálica sensível do *biochip* para permitir testes em tempo real e a obtenção de sensorgramas dos parâmetros da curva SPR, foram confeccionadas duas células de fluxo. Conforme é possível observar na Figura 13, as células são instaladas na superfície do *biochip* e o conjunto adaptador, *biochip* e célula de fluxo é instalado na cavidade da tampa superior. A Figura 14 ilustra detalhes de construção das duas configurações das células de fluxo.

A célula de fluxo do PPBIO mede aproximadamente $63.47 \times 25.4 \times 5 \text{ mm}$ enquanto a célula de fluxo do DOCE-chip mede $47.21 \times 24.4 \times 5$. Observando as Figuras 14a-14h, podemos verificar que as células de fluxo possuem dois orifícios cilíndricos de 2 mm prolongados pelo interior do objeto para direcionar o analito à superfície do *biochip*. Em um dos canais é possível injetar o analito e no outro essa substância pode ser ejetada facilmente.

Figura 14 – Detalhes construtivos das células de fluxo. Célula de fluxo do DOCE-Chip à esquerda e célula de fluxo do PPBIO à direita. Indicação da entrada do canal em a) e e), canais de condução em c) e g) e saída da solução química da célula em b) e f). Em d) e h) são exibidas as dimensões das células de fluxo.

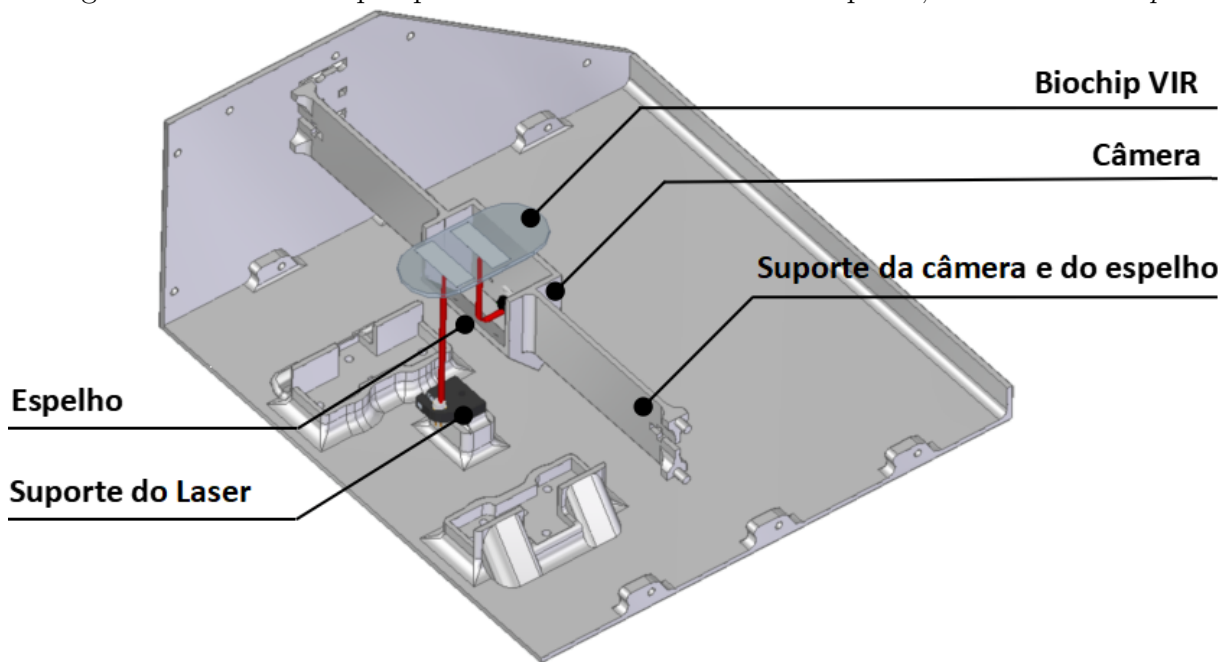


Para garantir que o analito seja confinado à região metálica-sensível e evitar que o líquido vaze, foi dimensionado um anel de vedação *O-ring* de $10\text{mm} \times 1\text{mm}$. Este anel, indicado nas Figuras 14b) e 14e), está alojado em uma ranhura da célula de fluxo e, quando é submetido a uma pressão, este assegura a vedação inicial do sistema.

4.1.3 Suportes da câmera e do espelho

Para um melhor aproveitamento do sinal luminoso refletido pelo biochip, a câmera deve estar alinhada. Devido às dimensões dos componentes eletrônicos, foi

Figura 15 – Visão em perspectiva do alinhamento entre espelho, câmera e *biochip*.



necessário utilizarmos um espelho para refletir o feixe luminoso e garantir o alinhamento do sinal. A câmera e o espelho são instalados em um suporte, conforme é exibido nas Figuras 12b) e 15. O suporte tem $206 \times 36.7 \text{ mm}$ e o espelho é fixado com um ângulo de 45° entre a câmera e o *biochip* para refletir o sinal. Como os biochips tem tamanhos diferentes, este suporte também foi dimensionado para assumir duas posições distintas e dessa forma, é possível realizar a aquisição do sinal luminoso com as duas categorias de *biochips*.

4.1.4 Sistema de movimentação dos componentes ópticos

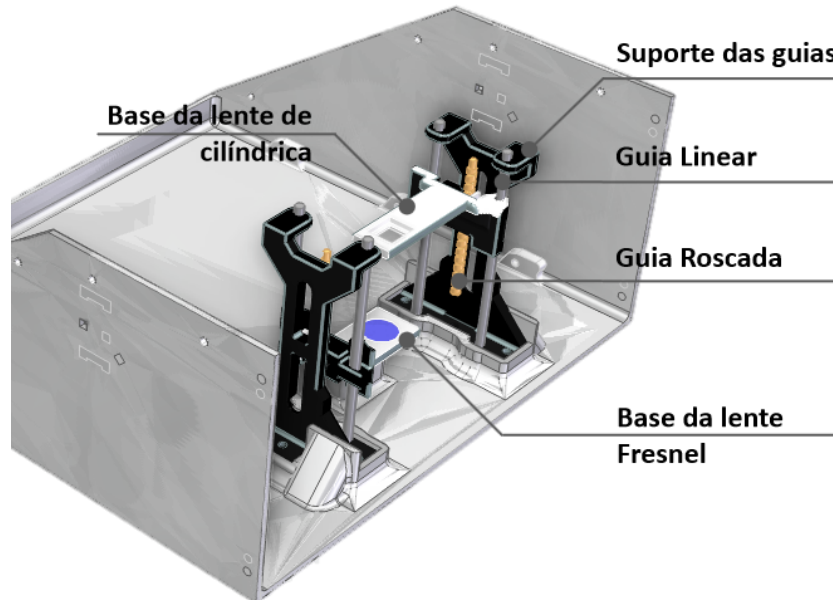
Esta seção propõe um sistema de movimentação para as lentes de Fresnel e cilíndricas. O sistema pode ser visualizado na Figura 12b).

A movimentação dos componentes ópticos foi implementada por guias lineares. As guias lineares são projetadas para movimentar cargas por um trilho de forma suave e precisa. Para movimentar as guias, propomos utilizar um motor de passo. Dessa forma, é possível, além de garantir o alinhamento dos componentes, também realizar a movimentação dos componentes ópticos sem interferência humana.

O motor de passo é extraído de um *DVD player* acoplado a guias lineares para realizar a movimentação do sistema. Esse conjunto de motor com guias lineares

acopladas mede aproximadamente $65 \times 15 \text{ mm}$. A proposta é que os motores e as guias lineares sejam acoplados a case e o curso para movimentação das lentes no eixo Z é de aproximadamente 50 mm .

Figura 16 – Sistema de movimentação das lentes.



Fonte: Autoria própria (2022).

Uma peça foi confeccionada para servir como base da lente. Esta peça, é fixada e acoplada ao eixo roscado da guia linear, e dessa forma, quando a guia se movimenta, a base movimenta a lente no eixo vertical. Como temos dois tipos de lentes diferentes e estas têm formatos diferentes, duas bases foram projetadas para servir de suporte para as lentes. Para não haver colisão entre as bases das lentes, se quisermos elevar as duas bases, devemos primeiro mover a base da lente cilíndrica para cima e então mover a base da lente de fresnel. Se quisermos mover as lentes no sentido contrário, devemos realizar o movimento inverso.

Também foi inserido ao projeto da base uma estrutura que conecta a base as barras lisas e roscadas. A estrutura completa da base da lente, incluindo o seu acoplamento as barras, medem $51.5 \times 14 \times 3 \text{ mm}$ (plano-convexa) e $43 \times 17 \times 3 \text{ mm}$ (fresnel).

4.1.5 Impressão das peças em 3D

O projeto da estrutura foi impresso em uma impressora 3D, a Creality Ender 3. Para tal, foi utilizado o poliácido láctico (PLA). Este material é conhecido por ser

derivado de resíduos orgânicos, possuir diversas aplicações e também por ser um plástico compostável, biodegradável e reciclável. Além disso, o filamento de PLA é um dos mais utilizados para realizar impressões em 3D. Isso se dá principalmente por sua facilidade de impressão, dureza e resistência. As configurações utilizadas para a impressão dos modelos estão disponíveis no Apêndice B. De modo a garantir a melhor integração entre as peças, a estrutura passou por ajustes mecânicos para corrigir as falhas estruturais.

4.2 Hardware

Esta seção aborda o desenvolvimento de um módulo para realizar a aquisição de sinais, como também controle dos equipamentos eletrônicos do sistema baseados nas especificações definidas no capítulo 3. Conforme é ilustrado na Figura 8, o *hardware* deste produto foi subdividido em duas partes principais: *Raspberry PI* e os periféricos: motores, câmera, diodo *laser* e *display*.

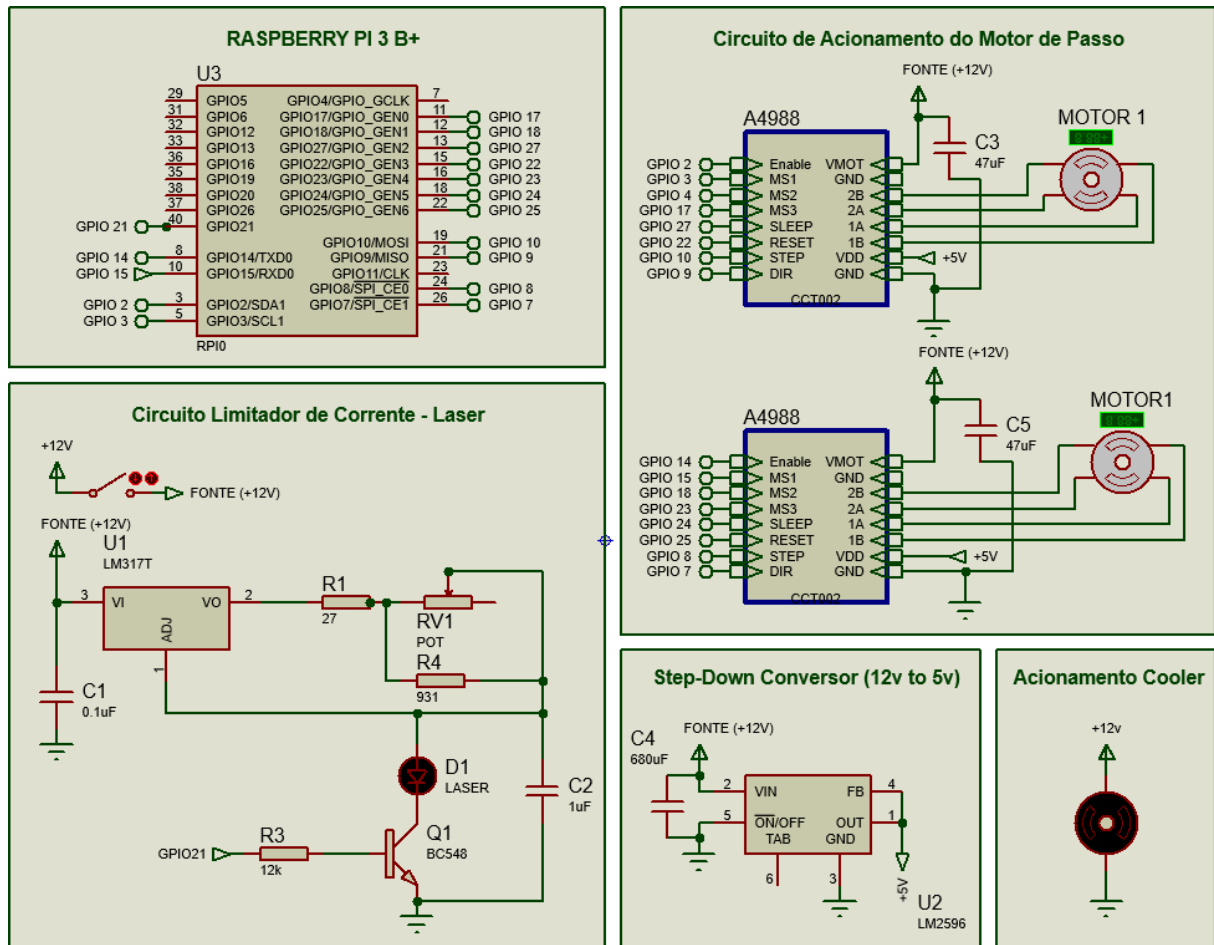
Para confecção da placa de circuito integrado (PCI), foi primeiramente desenvolvido e simulado todo o circuito eletrônico necessário para implementar o protótipo. Para isso, utilizou-se o *software Protheus*. O diagrama esquemático é exibido na Figura 17.

Uma Fonte 12V 5A 110/220VAC foi utilizada como alimentação principal de todo o circuito integrado. Como alguns componentes eletrônicos precisam ser alimentados com +5V (*Raspberry PI B+* e o *driver* do Motor de Passo A4988), utilizamos um módulo regulador de tensão (LM2596) para converter a tensão de 12v para 5v.

A emissão de luz no diodo *laser* é gerada pela injeção da corrente. Visto que a relação entre corrente injetada no diodo e potência são lineares, a corrente deve ser controlada para não haver sobrecarga do dispositivo e, conseqüentemente, danificá-lo. Para isso, foi desenvolvido um circuito limitador de corrente regulado através de um potenciômetro. Este circuito limita a corrente do diodo para atuar de $0mA$ a $40mA$, que é a faixa de corrente determinada como segura pelo fabricante do produto. O circuito regulador de corrente do diodo é exibido no diagrama esquemático.

O *Raspberry Pi*, através das portas *GPIO*, controla o acionamento do *laser*. A SBC também conta com conectores específicos para controlar a câmera e o *display*, são elas: interface serial para câmera (do inglês, *Camera Serial Interface* - CSI) e interface para display (do inglês, *Display Serial Interface* - DSI). Dessa forma, precisamos apenas conectar os dispositivos, via cabo, aos conectores específicos.

Figura 17 – Diagrama esquemático do circuito de acionamento do *laser*, do *cooler* e motores.

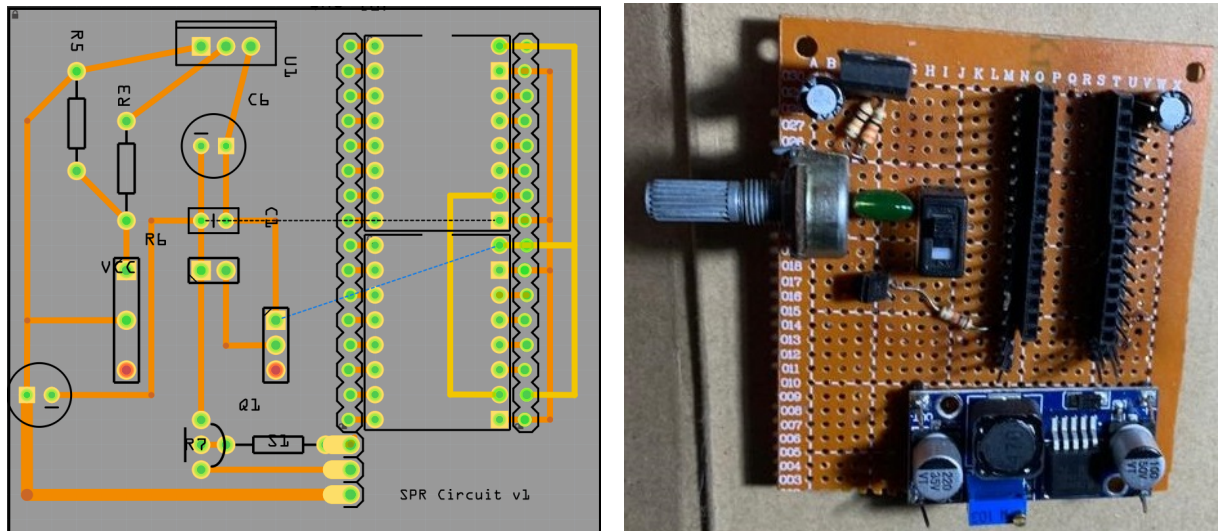


Fonte: Autoria própria (2022).

Para realizar o acionamento dos motores, foram utilizado dois módulos *driver* de Motor de Passo A4988. Porém, por falta de tempo hábil, o controle e acionamento dos motores não foram implementados no *software* e, assim, o ajuste das lentes pode ser realizado apenas de forma manual.

De posse dos diagramas esquemáticos, utilizou-se o *software Fritzing* para gerar o *layout* da placa. Logo após, utilizando uma placa perfurada 5x7cm e outros componentes eletrônicos, foi montada a placa de circuito integrado. O *layout* da placa PCI e a placa confeccionada são ilustradas nas Figuras 18(a) e 18(b).

Figura 18 – Circuito eletrônico - Projeto PCI e Montagem.



(a) *Layout* da placa de circuito impresso.

(b) Circuito eletrônico em placa perfurada.

Fonte: Autoria própria (2022).

4.3 Software

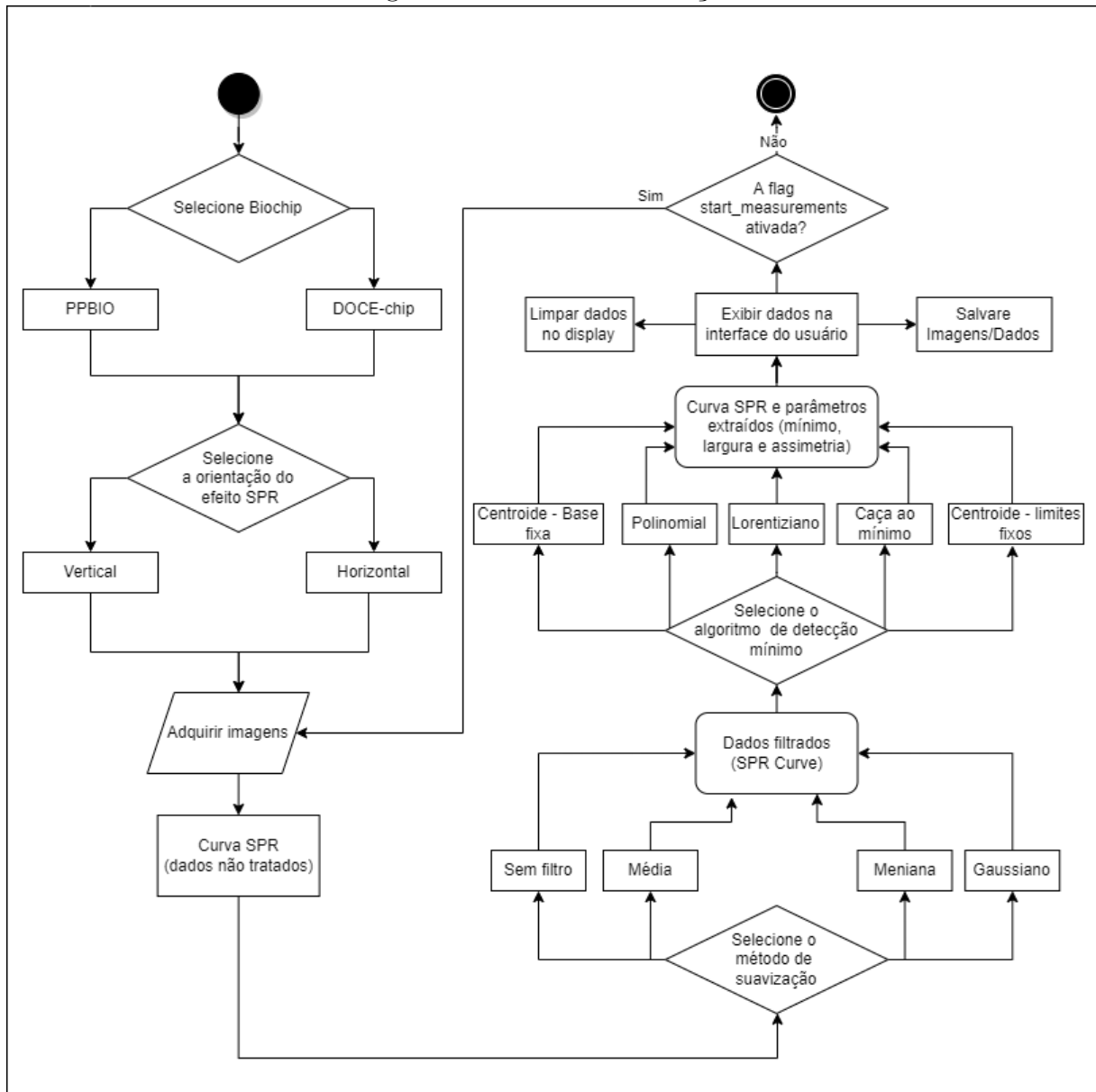
Conforme o que foi exposto na seção 3.1.1, para realizar a aquisição e processamento de dados, utilizamos um computador de placa única conhecido como *Raspberry Pi*. O *software* foi desenvolvido utilizando a linguagem de programação *Python* e a biblioteca de interface gráfica *Tkinter*. O *Tkinter* é nativo da linguagem *python* sendo conhecido pela sua facilidade de uso e quantidade de recursos disponíveis.

Este programa é responsável por controlar os equipamentos eletrônicos do sensor, por realizar a aquisição de imagens refletidas pelo *biochip*, por processar e armazenar as informações adquiridas e também é responsável por exibir as informações para o usuário em tempo real.

4.3.1 Processamento de dados

A Figura 19 ilustra o diagrama de fluxo da execução do processo de aquisição de dados do fenômeno SPR no *software*. Após definir os parâmetros iniciais da medição, que são o tipo de chip utilizado, a condição em que ocorre o fenômeno de ressonância (se ocorre na vertical ou horizontal), o filtro de suavização da imagem e o método de detecção da condição de ressonância na interface do usuário, pode-se iniciar o processo de aquisição do fenômeno SPR.

Figura 19 – Fluxo de execução.



Fonte: Autoria própria (2022).

Inicialmente, no seu processamento das imagens capturadas, os dados são segmentados e o sinal da solução é obtido através da média das linhas da imagem do canal R. Logo após, obtêm-se a curva SPR normalizada. Esta é obtida dividindo-se os dados do sinal da célula molhada pelo sinal da referência, conforme é abordado na equação (2.9).

É possível ainda utilizar um filtro de suavização para diminuir a interferência dos ruídos. Estes filtros podem ser aplicados, ou não, antes da exibição do gráfico e temos dois métodos disponíveis: média (*average*), mediana (*median*) e gaussiano (*gaussian*). Através desses dados, são calculados os parâmetros desejados como ângulo de ressonância, largura da curva, assimetria.

Para o cálculo do ângulo de ressonância podemos escolher entre cinco opções de algoritmos: caça ao mínimo (*minimum hunter*), método polinomial, método lorentiziano (*Lorentizian*) e os métodos de centroide base fixa (*First moment- fixed baseline*) e com limites fixos (*First moment - fixed boundary*).

A partir do processamento das imagens capturadas em tempo real são gerados os gráficos da curva SPR e o gráfico do sensorgrama. O sensorgrama é obtido por meio dos valores do ângulo de ressonância. Além disso, os valores de assimetria e largura da curva são calculados e exibidos na tela para cada curva SPR processada.

Durante o processamento, as imagens capturadas e os dados obtidos no processamento são salvos temporariamente e podem ser baixados em um cartão de memória para consultas posteriores.

Por último, o aplicativo verifica se foi solicitado o encerramento das medições. Caso o aplicativo seja encerrado ou as medições sejam pausadas, o processo termina. Caso contrário, inicia-se uma nova rotina de captura de imagem, processamento e exibição.

4.3.2 Interface com o usuário

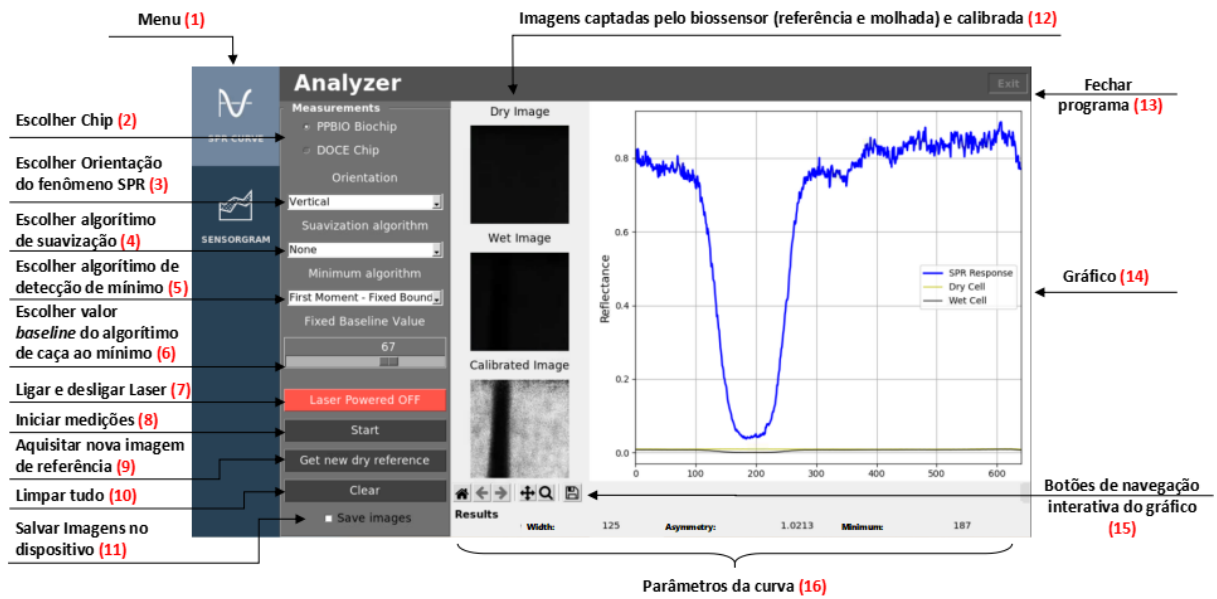
A interface gráfica foi construída visando ser simples e de fácil manipulação, de modo a evitar erros de utilização e assim aumentar a satisfação do usuário com o sistema. Um resumo das funcionalidades do sistema apresentadas neste texto pode ser observado na Figura 20, obtida durante a simulação do sistema, e na Tabela 3.

Conforme é possível visualizar na Figura 20, a interface foi dividida em duas partes: exibição da curva SPR e exibição dos dados do sensorgrama. Através do menu (1), podemos alterar entre estes modos e o *software* automaticamente faz a permuta entre a exibição gráfico da curva SPR ou do gráfico Sensorgrama. A simulação do gráfico do sensorgrama é ilustrada na Figura 21.

Após escolher o tipo de chip utilizado (2), a orientação que ocorre o fenômeno de ressonância (se ocorre na vertical ou horizontal) (3), o filtro de suavização (4), o algoritmo de caça ao ponto mínimo (5) e acionar o diodo *laser* através do botão "*Laser powered off*"(7), pode-se clicar no botão "*Start*"(8) para iniciar as leituras e a aquisição de dados do sistema.

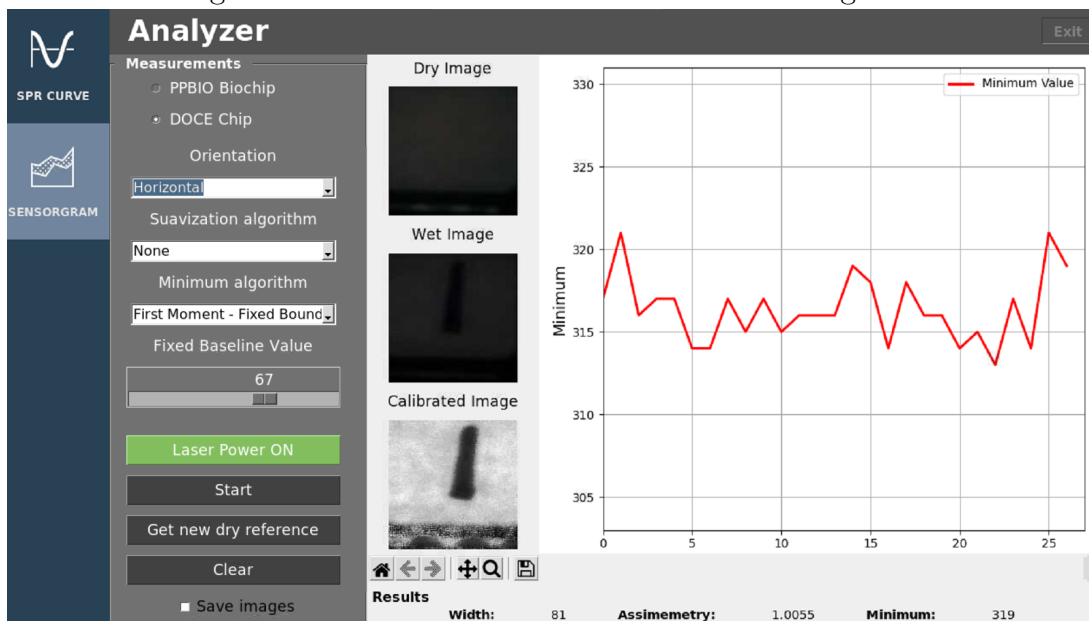
Como os *biochips* têm tamanhos diferentes, então ambos têm regiões da imagem capturada que interessam mais que outras. Dessa forma, a escolha do *biochip* filtra a

Figura 20 – Tela da interface do usuário: curva SPR.



Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 21 – Tela da interface do usuário: Sensorgrama.








Fonte: Autoria própria (2022).

imagem original para que o processamento da imagem ocorra apenas na região de interesse. A ideia é deixar a imagem capturada limpa e reduzir ruídos.

Conforme citado na seção 4.3.1, utilizando a interface, é possível configurar o método de suavização dos dados exibidos no gráfico da curva SPR e também o método de captura de valor mínimo da curva. No método de centroide base fixa (*First moment-fixed baseline*), o usuário deve informar o valor desejado para ser utilizado como base. Esse

Tabela 3 – Tabela de funcionalidades

Identificação	Descrição da Funcionalidade
1	Menu para escolher entre exibição da curva SPR ou do Sensorgrama;
2	Seleciona o tipo de <i>biochip</i> utilizado na medição. O programa ajusta a região de interesse automaticamente com base nesse parâmetro;
3	Escolher orientação que ocorre o fenômeno de SPR. Pode-se escolher entre vertical e horizontal;
4	Permite escolher o algoritmo de suavização da curva;
5	Permite escolher o algoritmo de detecção de mínimo;
6	Escolhe o valor para ser usado como linha de base no algoritmo de caça ao mínimo por "linha de base fixa";
7	Quando acionado, liga o <i>laser</i> ;
8	Inicia a rotina de medição;
9	Solicita a aquisição de uma nova imagem de referência (<i>\dry cell</i>);
10	Limpa os dados adquiridos da curva da memória e também limpa os dados exibidos na tela;
11	Quando ativada, salva as imagens adquiridas no cartão de memória;
12	Exibe imagens capturadas (referência e molhada) durante a medição e também exibe a imagem normalizada na tela;
13	Permite fechar o programa;
14	Exibe o gráfico da curva SPR;
15	Barra de navegação interativa do gráfico;
	Botão <i>Home</i> : sempre exibe a configuração inicial padrão do gráfico;
	Botões Avançar e Voltar: São usados para alternar para frente e para trás entre as visualizações definidas anteriormente;
	Botão <i>Pan</i> : Após selecionar este modo, pressione a tela para movimentar a figura, arrastando-a para uma nova posição;
	Botão de zoom para retângulo: ajusta os limites de visualização dos eixos do gráfico, ampliando para o retângulo definido pelo usuário. Para isso, ponha o cursor em algum lugar sobre os eixos do gráfico, pressione, arraste o cursor e solte. Os limites da visualização serão atualizados;
	Botão Salvar: salva arquivos ".txt" com pontos da curva SPR/Sensorgrama;
16	Exibe os parâmetros de largura, assimetria e ponto mínimo extraídos da curva SPR;

Fonte: Autoria própria (2022).

valor é determinado no campo "*Fixed baseline value*" e varia de 0 a 100.

Ao iniciar as medições, o sistema primeiramente informa ao usuário que irá capturar uma imagem da célula seca (*dry cell*) e, então, após adquirir a imagem, o sistema aguarda a confirmação do usuário para coletar uma nova imagem referente à célula molhada (*wet cell*). Após esse processo, o sistema realiza a normalização das duas imagens e tanto a imagem resultante da normalização quanto o gráfico da curva SPR são exibidos na

tela. Para visualizar o sensorgrama, deve-se acionar o botão "*Sensorgram*" e então o gráfico irá ser alterado para exibir os dados do sensorgrama referente às medições feitas anteriormente.

Enquanto o botão *Start* estiver acionado, as medições continuarão a acontecer. Se o usuário quiser adquirir uma nova imagem de referência, ele pode clicar no botão "*Get new dry reference*" e então o sistema irá parar a rotina atual de medição para capturar uma nova imagem referente à célula seca e logo irá continuar com as medições. O sistema também dispõe de botões para salvar as imagens adquiridas e para salvar os valores plotados no gráfico. Os dados são armazenados no cartão de memória com o nome "SPR" para dados da curva SPR e "*Sensorgram*" para dados do sensorgrama seguidos da data e hora de armazenamento.

4.4 Protótipo físico

Diante do *design* do projeto proposto, foi desenvolvido o protótipo do sensor SPR, denominado sensor SPR-SBC. O sensor, exibido na Figura 22, possibilitou o estudo do fenômeno de Ressonância de *plásmons* de Superfície no modo AIM e tem como principais características ser portátil, flexível e adaptável a duas categorias de *biochips*, o PPBIO e o DOCE-chip. Segundo a Tabela 5, encontrada na seção C de apêndices, o custo do protótipo do sensor foi de R\$3.410,31 e as dimensões do sensor são $194 \times 200 \times 90$ mm (largura \times comprimento \times altura).

Observando as Figuras 22a-22d, podemos vislumbrar a estrutura do sensor SPR impressa em 3D. As peças foram confeccionadas de forma individual utilizando o filamento de PLA e posteriormente montadas na case principal. Para fixar as peças impressas, o *display*, a case principal, foram utilizados parafusos metálicos *Philips* M3 x 6mm. As configurações de impressão são descritas nos apêndices, seção B. Na Figura 22a temos a visão do *display LCD* em que o usuário pode interagir com o sistema e na Figura 22b é possível observar o botão de ligar e desligar, o conector *Jack* fêmea que serve para conectar a fonte de alimentação e um ventilador (*Cooler*). As Figuras 22c e 22d ilustram a tampa superior do sensor e as células de fluxo para os *biochips* DOCE-chip e PPBIO, respectivamente.

Equipamentos eletrônicos, em especial o laser *diodo* e SCB, produzem calor enquanto estão em funcionamento. Nos trabalhos de Moreira *et al.* (2008), Chiang *et al.*

Figura 22 – Fotografias do protótipo do Sensor SBC-SPR. a) vista frontal, b) vista traseira e vista superior com elementos de tampa superior para os biochips c) DOCE-chip e d) PPBIO.



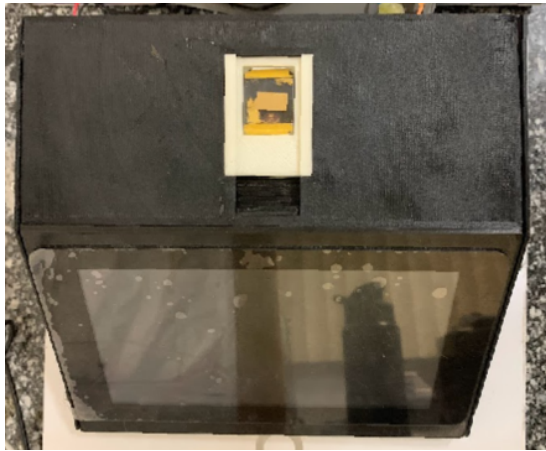
Fonte: Autoria própria (2022).

(2007), Naimushin *et al.* (2003) é discutido a influência das flutuações de temperatura no biossensor SPR. Com base nisso, como a case do sensor é fechada e não possui entradas de ar para ventilação, resolveu-se adicionar um *cooler* ao projeto com o intuito de diminuir a temperatura interna do sensor e respectivas influências.

Também é possível observar na Figura 22b o encaixe do suporte da câmera na lateral da case. Como citado anteriormente, os chips têm dimensões diferentes, então para ser possível o sensor utilizar duas configurações distintas, nós podemos movimentar esse suporte com o intuito de alinhar a posição da câmera e do espelho com o feixe de luz refletido pelo *biochip*.

Nas Figuras 23a e 23b, podemos observar os biochips DOCE e PPBIO acoplados em seus adaptadores e as células de fluxo. Esses adaptadores são personalizados para cada célula e permitem o encaixe da célula de fluxo na tampa superior da case. Observando as

Figura 23 – Vista superior do sensor com os biochips PPBIO e DOCE-chip e seus respectivos adaptadores.



(a) PPBIO.



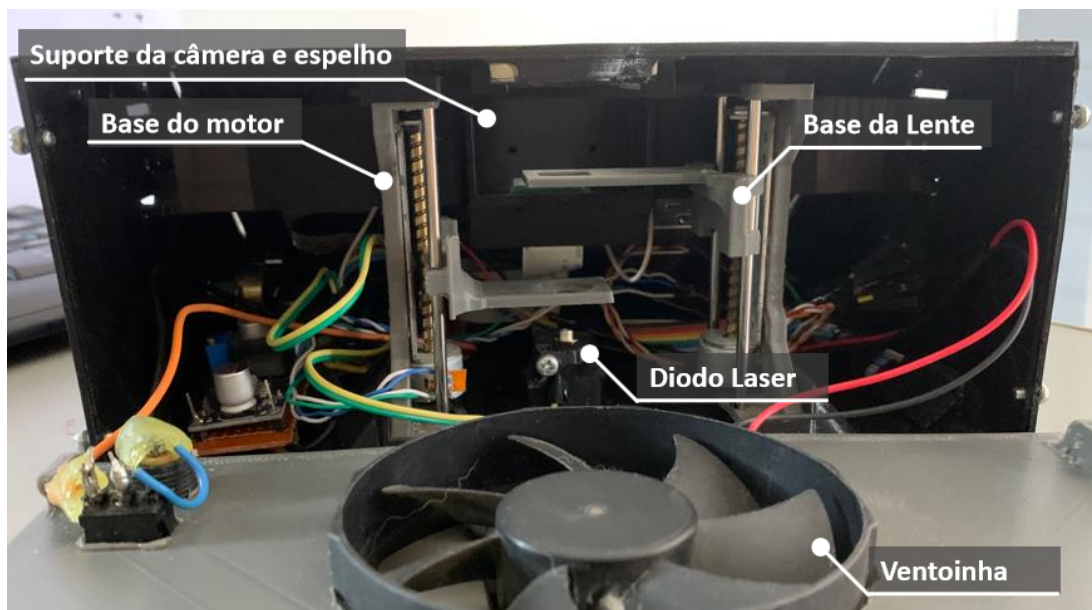
(b) DOCE-chip.

Fonte: Autoria própria (2022).

imagens, também podemos verificar que cada célula de fluxo possui dois orifícios. Estas aberturas são utilizadas para inserir e remover o analito no *biochip*, conforme explicado na Seção 4.1.2.

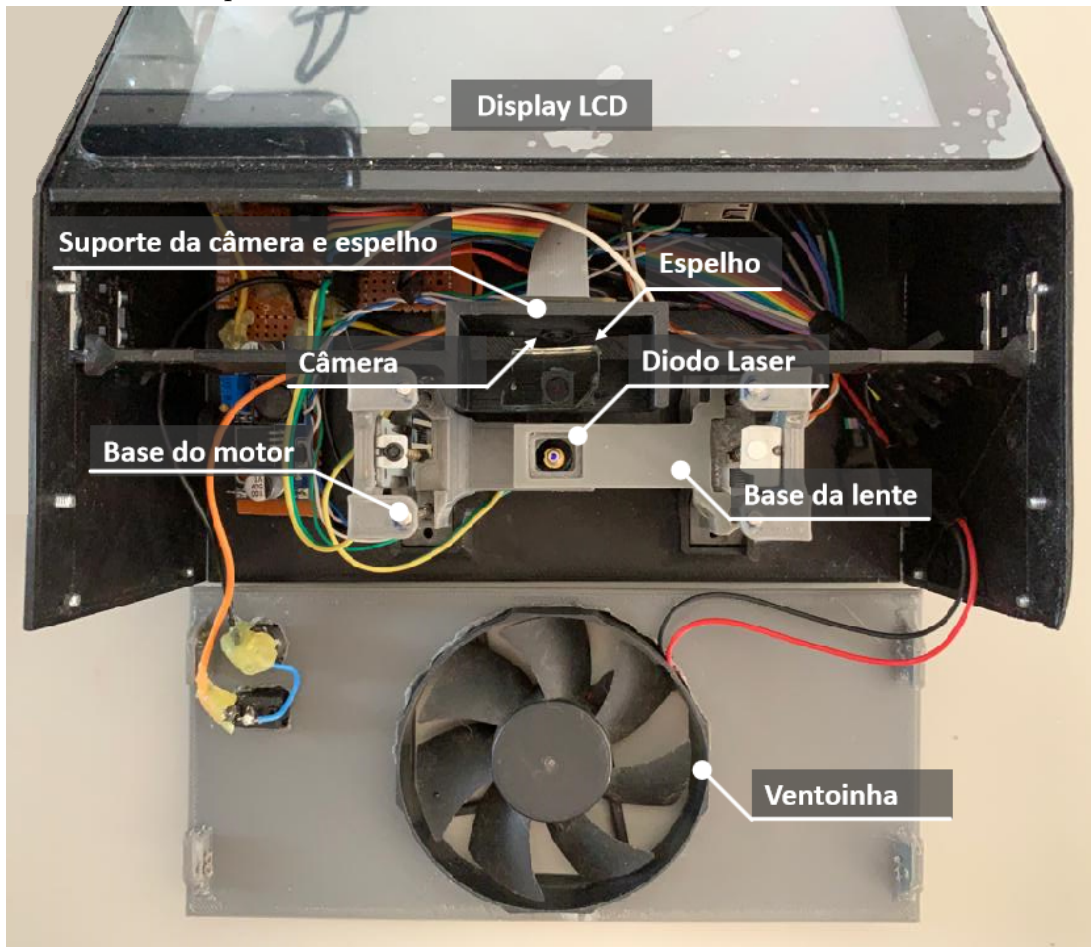
Nas Figuras 24 e 25, são ilustrados a montagem do diodo *laser*, do sistema de movimentação das lentes e do suporte da câmera e do espelho. A imagem também ilustra os detalhes do alinhamento óptico e mecânico dos componentes.

Figura 24 – Sistema embarcado do sensor SPR: alinhamento óptico e mecânico do sensor — vista traseira.



Fonte: Autoria própria (2022).

Figura 25 – Sistema embarcado do sensor SPR: alinhamento óptico e mecânico do sensor - vista superior.



4.5 Testes e validação

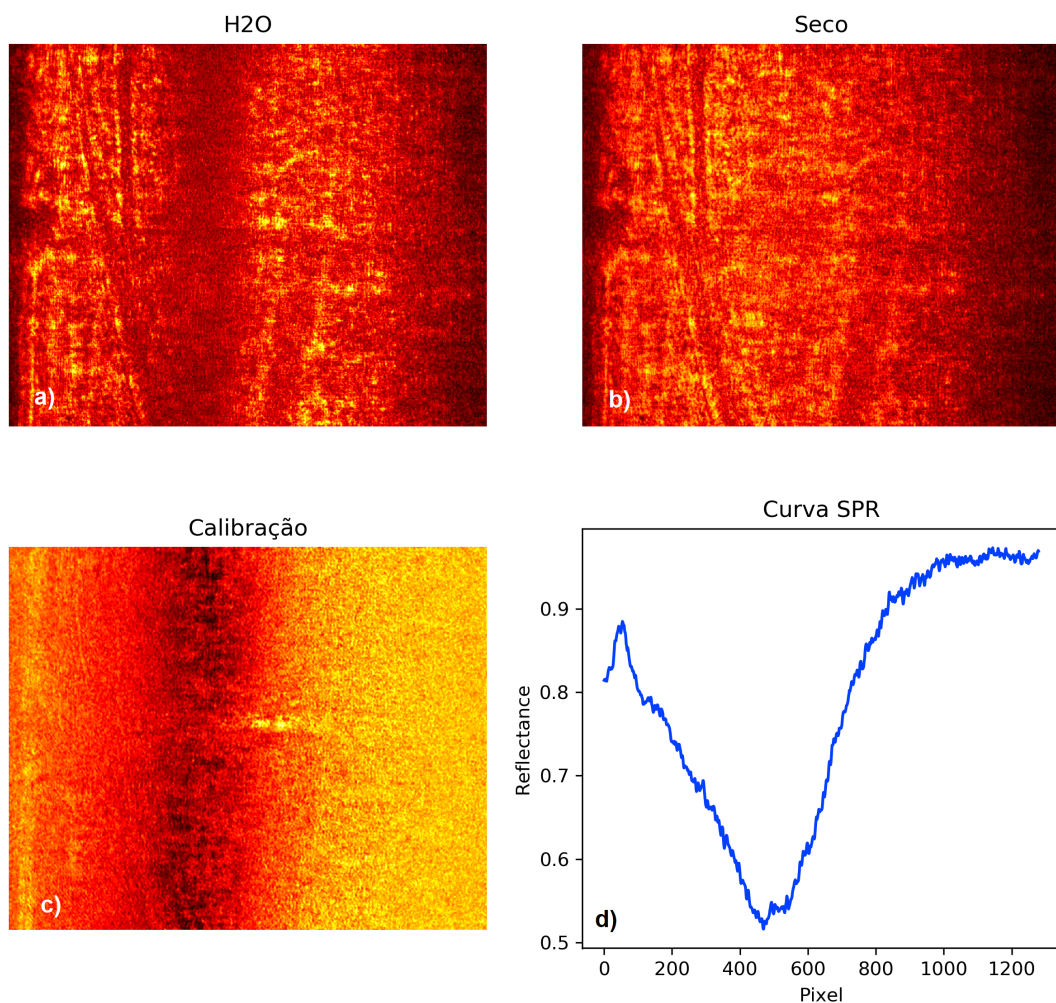
Nesta etapa é averiguado o funcionamento do sensor construído neste trabalho. O processo de validação é iniciado com testes simulados para validar o algoritmo do sensor e verificar se o processamento dos dados está sendo realizado conforme esperado. Logo após, foram realizados testes adquirindo imagens com a câmera do sensor e simulando o fenômeno SPR para validar se a aquisição está acontecendo corretamente. Após certificar que o sensor está adquirindo e processando os dados corretamente, foram realizados testes no sensor simulando o efeito SPR para validar as funcionalidades do *hardware* e *software*. Por fim, são realizados testes integrados com substâncias químicas. O processo é detalhado a seguir.

Visto que os prismas PPBIO disponíveis em laboratório não se encontravam em boas condições, pois estavam com a camada metálica deteriorada ou ausente, os testes experimentais estão restritos apenas ao *biochip* DOCE.

4.5.1 Testes Iniciais

Inicialmente, foram verificadas as funcionalidades do *software* desenvolvido. Nesta etapa, os algoritmos para calcular a curva SPR, algoritmos de suavização e de caça ao mínimo foram submetidos a testes utilizando imagens com o fenômeno SPR adquiridas em experimentos anteriores no laboratório *GESYCA*.

Figura 26 – Processo de calibração do sensor utilizando água como elemento biológico.



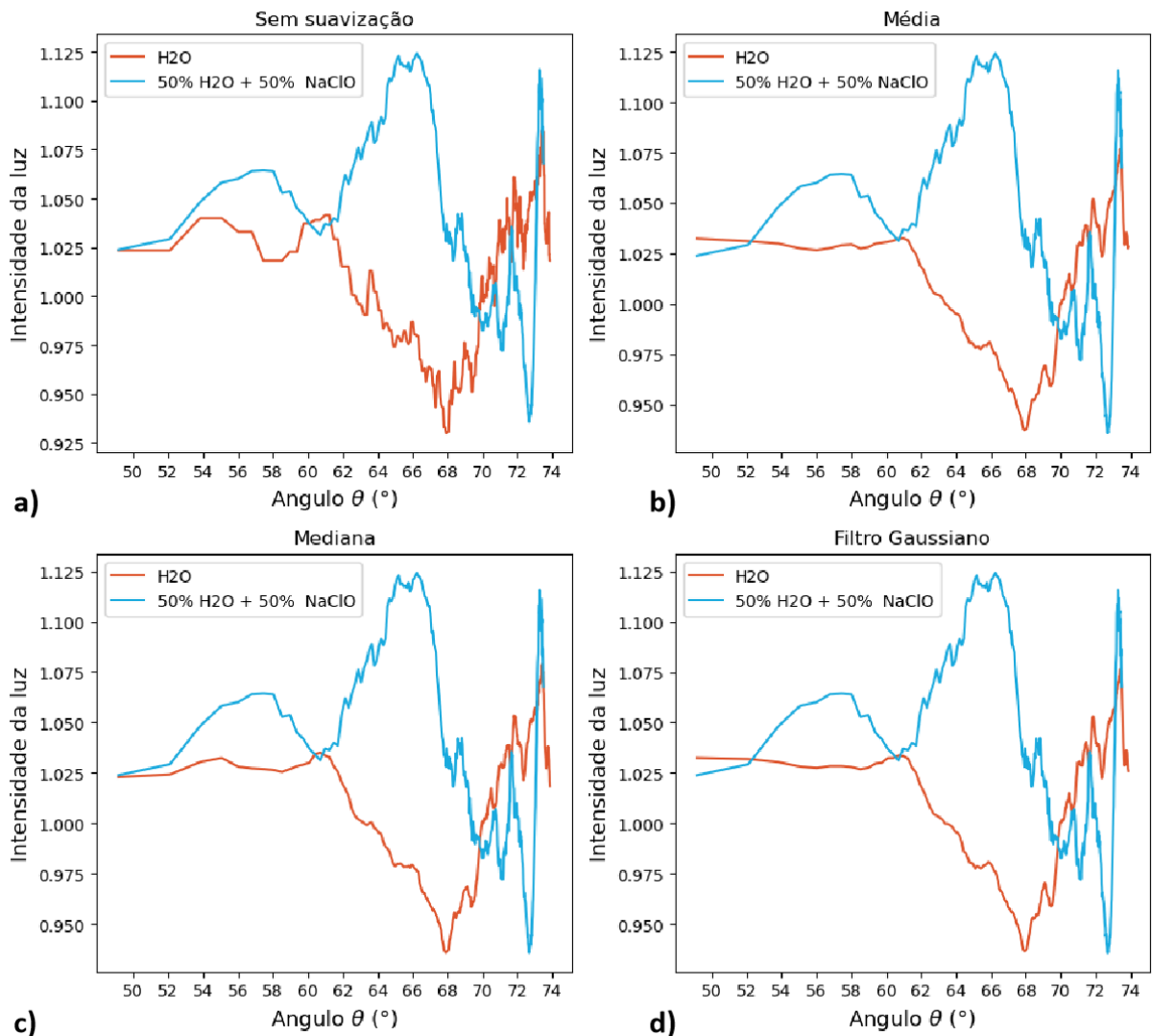
Fonte: Autoria própria (2022).

A Figura 26 ilustra o processo de obtenção da curva SPR. As Figuras 26(a), Figura 26(b) e Figura 26(c) representam respectivamente a imagens com resolução 1280×1024 adquiridas para água, célula seca (referência) e a divisão dos dados adquiridos da Figura 26(a) pela Figura 26(b). Por último, a Figura 26(d) exibe a curva SPR normalizada em forma de gráfico: média das 1280 linhas de *pixels* da Figura 26(c).

Com o intuito de reduzir o ruído presente no sinal de imagem da curva SPR, é

de suma importância realizar o pré-processamento de dados. Esse processo visa melhorar a qualidade do sinal captado a partir de técnicas de suavização da imagem. Para validar os filtros, são utilizadas imagens adquiridas previamente em outros experimentos e indicamos no *software* o filtro a ser utilizado. Na Figura 27 é exibido um estudo comparativo realizado utilizando os métodos de suavização média, mediana e filtro gaussiano.

Figura 27 – Estudo comparativo entre os métodos de suavização aplicados ao sinal de imagens experimentais de H₂O e NaClO. a) Sem tratamento de sinal. Aplicado filtro de média móvel em b), filtro de mediana em c) e filtro gaussiano em d).

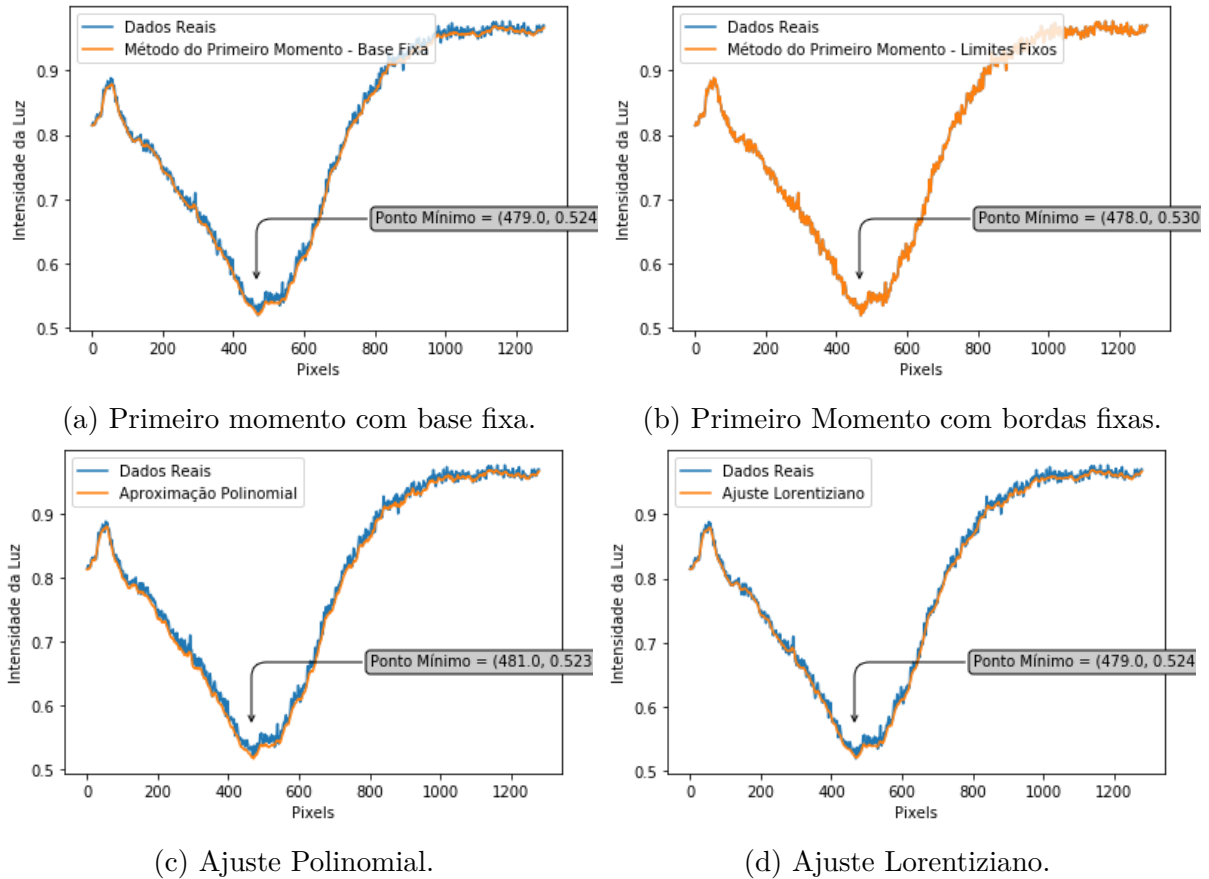


Fonte: Autoria própria (2022).

De forma semelhante à validação dos filtros, os algoritmos de detecção de ponto de ressonância são validados. A Figura 28 ilustra a comparação entre os métodos de obtenção do ponto de ressonância. Os algoritmos abordados são: centroide com linha

de base fixa (Figura 28(a)) e centroide com bordas fixas (Figura 28(b)), interpolação polinomial (Figuras 28(c)) e ajuste Lorentiziano (Figuras 28(c)).

Figura 28 – Comparação entre os métodos de detecção do ponto de ressonância.



Fonte: Autoria própria (2022).

4.5.2 Testes Integrado simulados

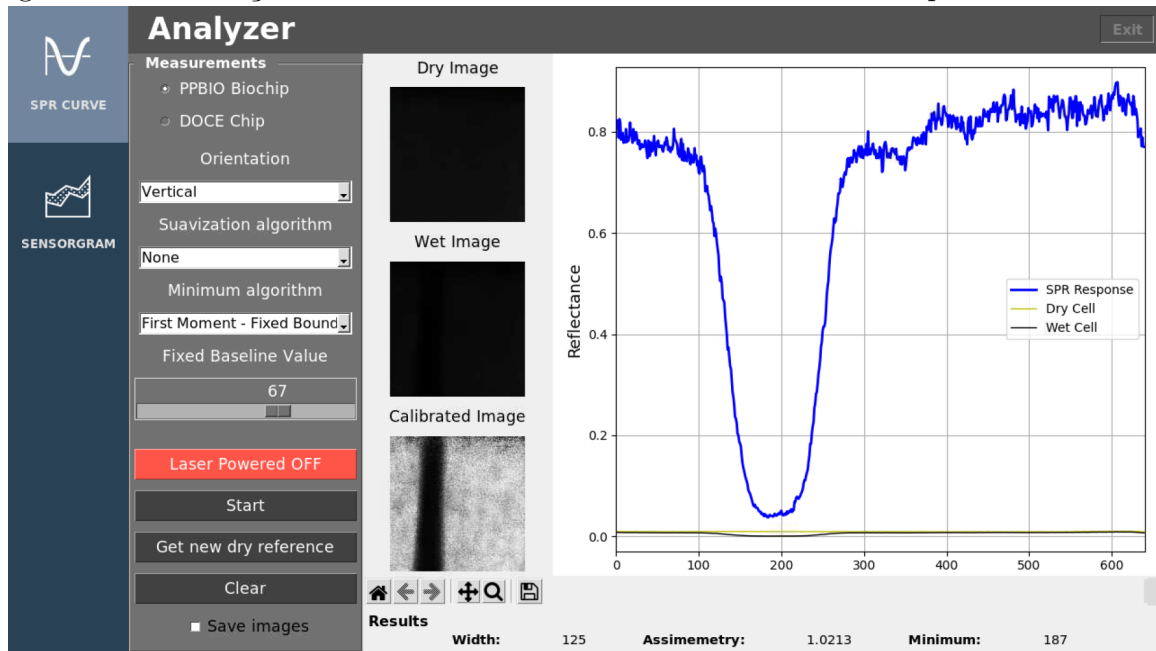
Após concluir a validação inicial, o sistema do sensor SBC-SPR (*Software, hardware* e estrutura) foi submetido a testes integrados. A princípio, foram realizados testes simulados para validar a aquisição de sinal, processamento e exibição da curva SPR e então foi validado as funcionalidades do sensorgrama.

Curva SPR

Conforme é possível observar na Figura 26, ao inserimos um analito sobre o *biochip*, uma linha escura surge sobre a imagem como resultado do feixe de luz ao ocorrer o fenômeno SPR. Para simularmos o fenômeno SPR, utilizaremos uma folha de papel com

uma linha preta desenhada na vertical. A folha de papel é inserida no local oem que fica o adaptador, região na qual a imagem é capturada, e então é iniciado o processo de medição. Dessa forma, podemos verificar as funcionalidades de aquisição, processamento e exibição das informações no *display*. O resultado da simulação da curva SPR e do sensorgrama são ilustrados nas Figuras 29 e 30, respectivamente.

Figura 29 – Simulação do fenômeno SPR ao inserir um analito na superfície do biochip.



Fonte: Autoria própria (2022).

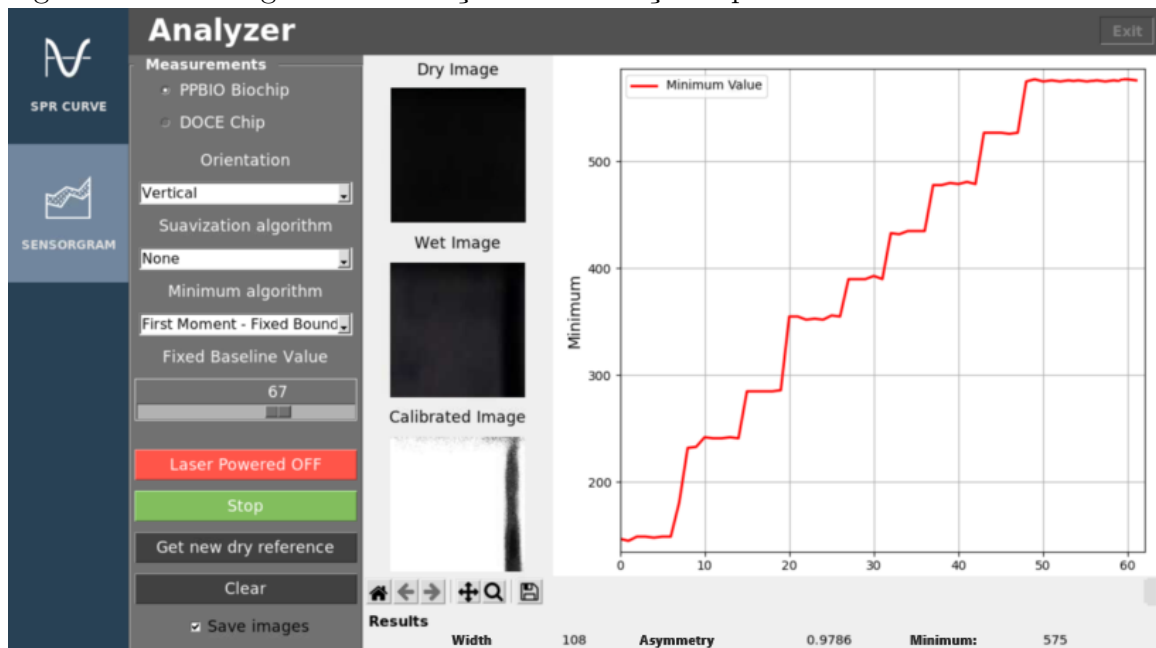
Sensorgrama

Para validarmos o funcionamento do sensorgrama, precisamos validar o deslocamento da curva. Para isso, utilizaremos o mesmo processo descrito anteriormente, porém, desta vez, a folha é movimentada da esquerda para a direita para simular o deslocamento do ponto mínimo. Observando o gráfico da Figura 30, verificamos que à medida que deslocamos o papel, o ponto mínimo também se desloca.

4.5.3 Teste integrado com soluções químicas

Nesta etapa, os sistemas que compõem o sensor SBC-SPR (*Software, hardware e estrutura*) foram submetidos a testes integrados com soluções químicas visando investigar o desempenho do sensor na detecção de substâncias. A princípio foram realizados testes

Figura 30 – Sensorgrama: simulação da mudança do ponto de ressonância do analito.



Fonte: Autoria própria (2022).

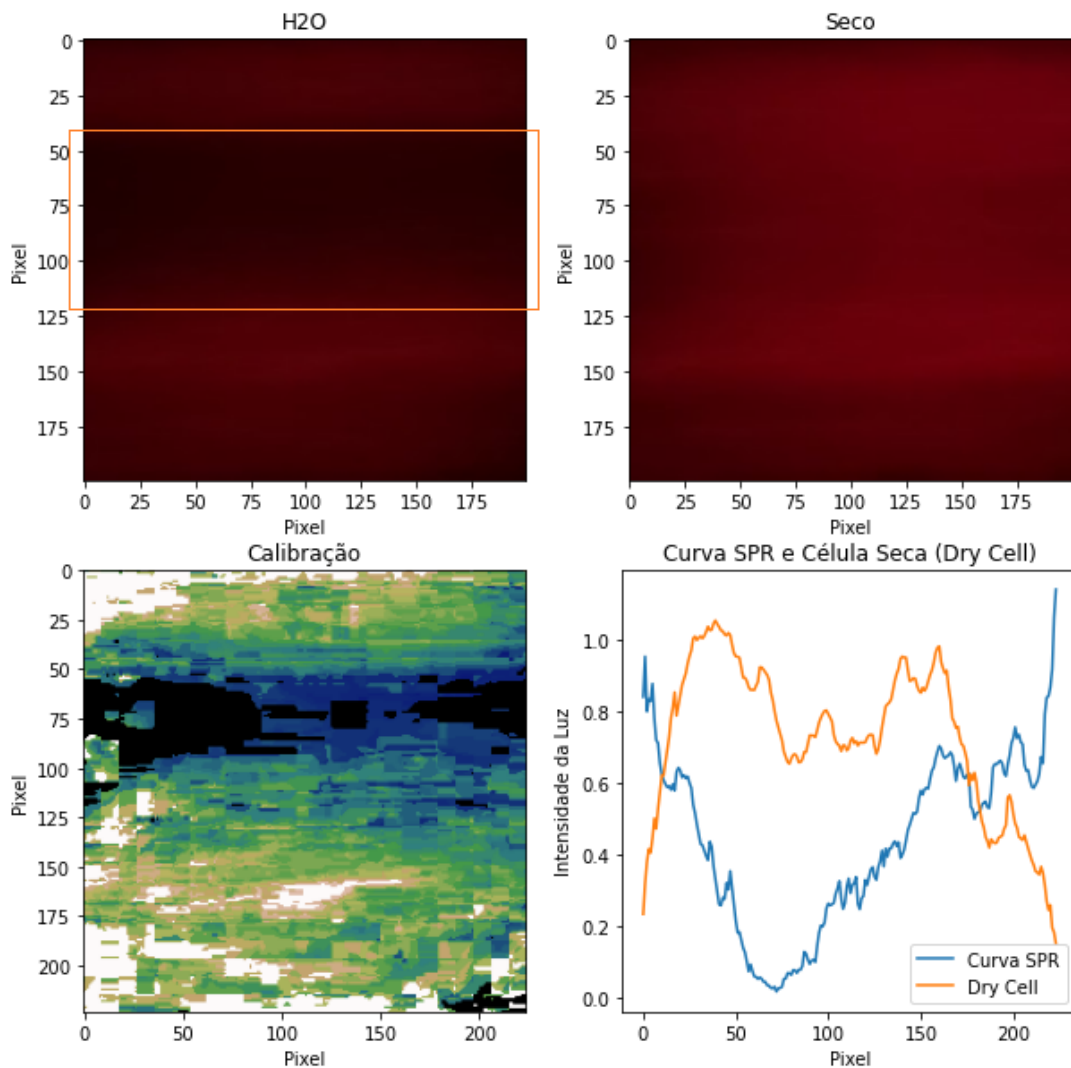
com uma solução composta apenas de água deionizada e desgaseificada (H_2O). Já no segundo teste, utilizou-se uma solução que é composta por 50% de água deionizada e desgaseificadas e 50% de hipoclorito de sódio (Hipo.). Os testes são descritos a seguir.

Para realização destes testes utilizamos apenas a lente de fresnel para colimar os feixes de luz que saem do diodo *laser* em direção ao DOCE-Chip. Visando obter um melhor resultado, a posição da lente foi ajustada manualmente e posicionada a 12mm do diodo *laser*. A potência do feixe de luz do diodo *laser* também foi ajustada por meio do potenciômetro do circuito limitador de corrente.

Após realizar estes ajustes, foram capturadas duas imagens por meio da câmera para a obtenção da curva SPR. A primeira com a célula vazia (*dry cell*), apenas com presença de ar, e a segunda com a substância biológica (H_2O ou Hipo.) na célula de fluxo (*wet cell*). Após esse procedimento, é realizado a normalização do sinal, regido pela expressão matemática exibida na equação (2.9). Os resultados destes experimentos são expostos a seguir.

As Figuras 31(a) e 31(b) ilustram as imagens capturadas água e célula a seco. A normalização dos dados adquiridos é apresentada na Figura 31(c) e na Figura 31(d) é exibida a curva SPR normalizada e o sinal da célula seca em forma de gráfico.

Figura 31 – Processo de calibração do sensor utilizando água como elemento biológico.

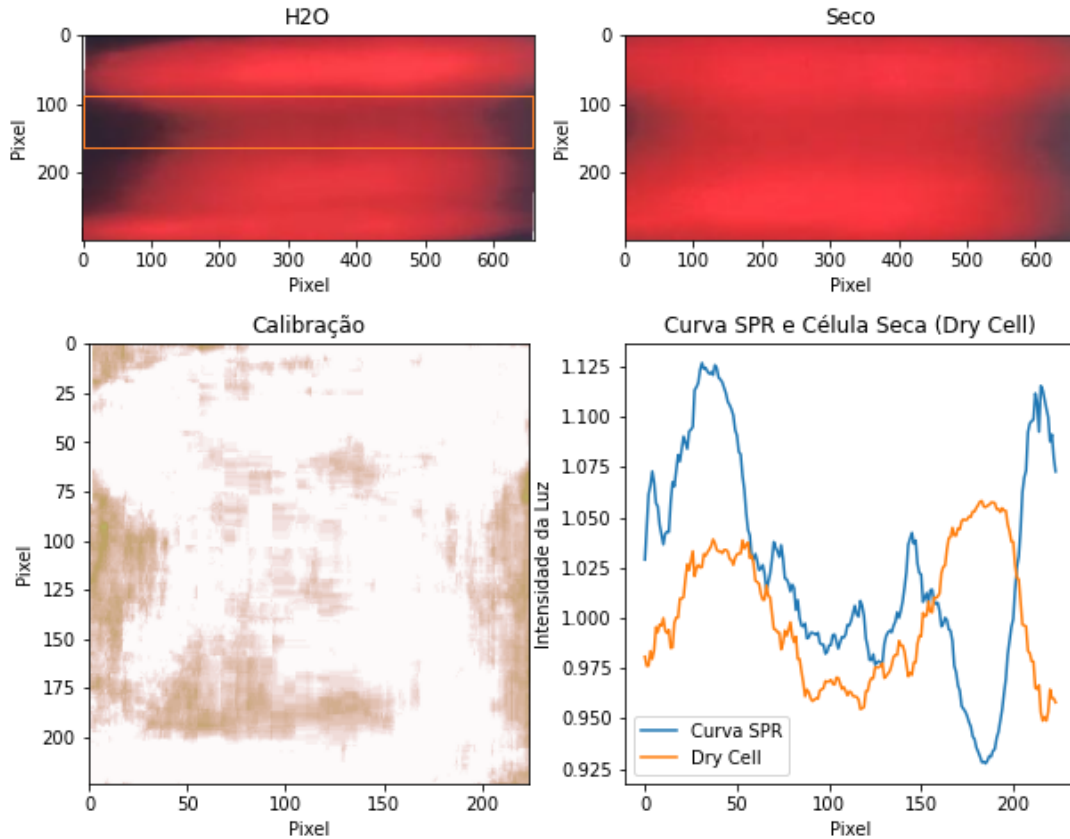


Fonte: Autoria própria (2022).

De modo a verificar o deslocamento da curva, outro experimento foi realizado utilizando uma solução composta por água deionizada e desgaseificada e hipoclorito de sódio em partes iguais. A Figura 32 expõe as imagens capturadas da solução e da célula seca, o sinal da curva SPR normalizada e o sinal da célula seca.

A Figura 33 ilustra a comparação entre os métodos de detecção de mínimo. Os métodos de interpolação polinomial e caça ao mínimo são os métodos que apresentaram maior sensibilidade. A transição de $\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Hipo}$, de 68° para 72° , indica uma variação no índice de refração (ΔIR) de 3.0×10^{-2} RIU, correspondendo a uma variação no ângulo de ressonância ($\Delta\theta$) de aproximadamente 4.8° . Tais variações resultam em um valor de sensibilidade ($S_\theta = \Delta\theta/\Delta\text{IR}$) de aproximadamente $160^\circ/\text{RIU}$, equiparável aos resultados obtidos para os biochips utilizados.

Figura 32 – Processo de calibração do sensor utilizando solução de água e hipoclorito de sódio como elemento biológico.



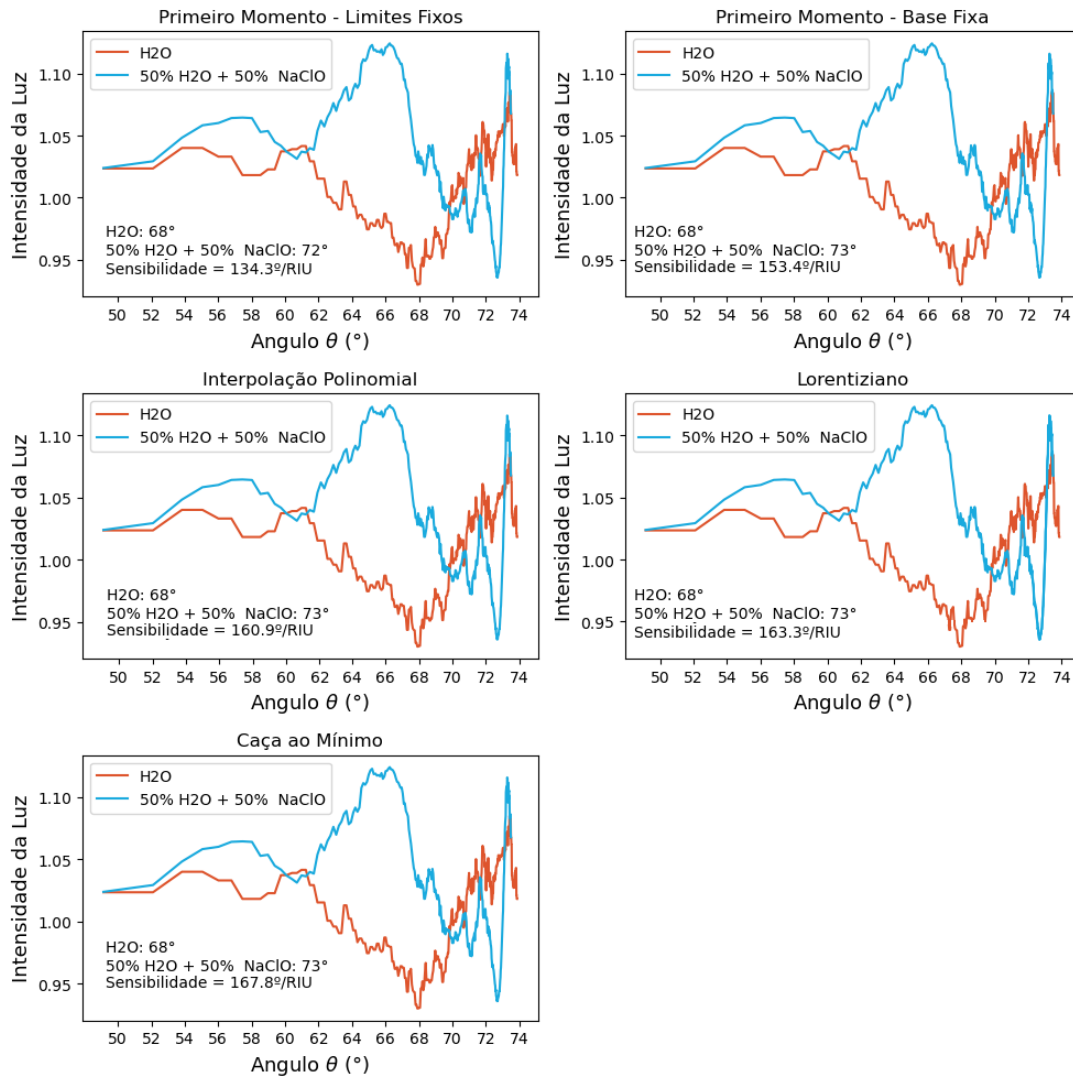
Fonte: Autoria própria (2022).

Observando a Figura 33, podemos observar que o mergulho da absorção do fenômeno SPR é assimétrico. Também é possível observar que após realizar o gotejamento de hipoclorito de sódio (NaClO), a curva SPR se deslocou para a direita da tela, evidenciando a mudança de posição de ressonância para uma posição de pixel maior.

A refletância geralmente está presente em termos de espectro angular. Para isso é necessário converter o pixel em ângulo através da relação de calibração descrita em Oliveira *et al.* (2015). A relação pixel-ângulo utilizada para calibração do sensor é $\theta(p) = 4.268 \times \ln(p) + 49.142$, em que p é a posição do pixel.

Os parâmetros extraídos das curvas SPR demonstram como o analito se comporta na presença de substâncias químicas. A tabela 4 apresenta o comparativo entre os parâmetros extraídos para NaClO e H_2O . A largura e assimetria são obtidas por meio da distância entre a borda da esquerda (CL) e a borda da direita (CR) através das equações 2.7 e 2.8. A largura para a água e NaClO são, respectivamente, de 6° e 2° e assimetria de 1.005 e 1.002. Os algoritmos de primeiro momento e lorentiziano demonstraram melhores

Figura 33 – Estudo comparativo entre os métodos de detecção do ponto de ressonância.



Fonte: Autoria própria (2022).

resultados para detecção do ponto mínimo das substâncias em análise e demonstram uma variação média de 0.1 para água e 0.58 para NaClO.

Tabela 4 – Comparação entre os métodos de detecção do ponto de ressonância extraídos da curva SPR.

Parâmetro	H ₂ O	NaClO
Primeiro Momento — Limites Fixos	68.3°	72.3°
Primeiro Momento — Base Fixa	68.0°	72.6°
Interpolação Polinomial	67.9°	72.7°
Lorentiziano	68.0°	72.6°
Caça ao Mínimo (Minimum Hunter)	67.9°	72.7°
Largura	6°	2°
Assimetria	1.005	1.002

Fonte: Autoria própria (2022).

5 CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS

O presente trabalho apresenta uma proposta de um sensor SPR portátil baseado em um mini computador *Raspberry Pi* e os *biochips* PPBIO e DOCE. A ideia é criar um sensor SPR flexível, portátil e de baixo custo que permita o sensoriamento de substâncias em campo.

Inicialmente, foram apresentados os princípios fundamentais básicos sobre sensores de ressonância de plásmons de superfície, destacando os trabalhos baseados em plataformas portáteis com o intuito de estudar as tecnologias presentes nos biossensores SPR. Também foi proposto uma metodologia para confecção da solução com a intenção de evitar possíveis falhas na fase de implementação e desenvolver um protótipo confiável.

Em um segundo momento, foram elencados os requisitos e especificações básicas para um sensor que faz uso dos *biochips* PPBIO (espesso) e DOCE-chip (fino) operando no modo de interrogação angular e então foi projetado o sensor. O projeto do sensor se dividiu em três frentes principais: o *design* da estrutura mecânica, implementação do *software* e o projeto eletrônico. O projeto da estrutura mecânica foi realizado no *software Solid Edge* e confeccionado por uma impressora 3D. O sensor completo mede aproximadamente $194 \times 200 \times 90 \text{ mm}$ (largura \times comprimento \times altura). O *software* foi implementado utilizando a linguagem de programação *python*, dispõe de uma interface amigável e de ferramentas para análise de dados das curvas SPR.

Para validação do sensor, foram realizados testes no *software* e então foram feitos testes simulados no sistema embarcado completo e montado. Após verificar que o sistema estava se comportando conforme o esperado foram realizados experimentos utilizando soluções biológicas. Os testes experimentais ficaram restritos apenas ao *biochip* DOCE dado que o *biochip* PPBIO disponíveis no laboratório estavam danificados. O primeiro experimento utilizou água pura (deionizada e desgaseificada — H_2O) e o segundo teste utilizou uma solução composta por 50% de água deionizada e desgaseificadas e 50% de hipoclorito de sódio ($\text{H}_2\text{O} + \text{NaClO}$).

Os resultados demonstraram uma sensibilidade de aproximadamente $160^\circ/\text{RIU}$, equiparável aos resultados obtidos para os *biochips* utilizados e, na transição de $\text{H}_2\text{O} \rightarrow$ Hipo, uma variação no índice de refração de $3.0 \times 10^{-2} \text{RIU}$, correspondendo a uma variação no ângulo de ressonância ($\Delta\theta$) de 4.8° .

O custo total do projeto foi de aproximadamente R\$3410.31 e os resultados

preliminares indicam que o protótipo se apresenta como uma plataforma de medição em tempo real, prática, portátil e funcional. O sistema apresentado neste trabalho mostra-se promissor e com grande potencial para realização de experimentos e análises do fenômeno SPR, podendo ser refinado posteriormente como continuidade da pesquisa e possíveis perspectivas de trabalhos futuros. A seguir, são apresentadas algumas propostas:

1. Refatorar código para diminuir tempo entre medições em 50%;
2. Validar função sensorgrama do *software* com soluções biológicas;
3. Analisar circuito eletrônico de modo a implementar o acionamento dos motores do sistema de movimentação das lentes;
4. Inserir sensores de distância ao circuito eletrônico do sistema de movimentação das lentes a fim de realizar a movimentação das lentes com mais precisão;
5. Implementar algoritmo de para buscar o melhor foco por meio da movimentação das lentes;
6. Controle de corrente do laser via *software*;
7. Inserir controle de verificação de autoteste para indicar se houve troca dos chips de forma correta;
8. Adicionar sistema de baterias recarregáveis ao protótipo visando melhorar a portabilidade do aparelho, e independente de energia elétrica disponível no local;
9. Inserir sensor de temperatura ao circuito eletrônico e realizar um estudo sobre influência das flutuações de temperatura nas medições;
10. Aperfeiçoar o projeto da célula de fluxo;
11. Para fins comparativos, repetir os experimentos realizados com *biochip* PPBIO de Moreira *et al.* (2010);

REFERÊNCIAS

- BREMER, K.; ROTH, B. Fibre optic surface plasmon resonance sensor system designed for smartphones. **Optics express**, Optical Society of America, v. 23, n. 13, p. 17179–17184, 2015.
- BRULÉ, T.; GRANGER, G.; BUKAR, N.; DESCHÊNES-RANCOURT, C.; HAVARD, T.; SCHMITZER, A. R.; MARTEL, R.; MASSON, J.-F. A field-deployed surface plasmon resonance (spr) sensor for rdx quantification in environmental waters. **Analyst**, Royal Society of Chemistry, v. 142, n. 12, p. 2161–2168, 2017.
- CENNAMO, N.; CHIAVAIOLI, F.; TRONO, C.; TOMBELLI, S.; GIANNETTI, A.; BALDINI, F.; ZENI, L. A complete optical sensor system based on a pof-spr platform and a thermo-stabilized flow cell for biochemical applications. **Sensors**, Multidisciplinary Digital Publishing Institute, v. 16, n. 2, p. 196, 2016.
- CENNAMO, N.; MASSAROTTI, D.; MONICA, A. D.; BUSSOLO, A. D.; FIORILLO, A.; ZENI, L. A simple arduino-based configuration for spr sensors in plastic optical fibers. **IET**, 2015.
- CHIANG, H.-P.; CHEN, C.-W.; WU, J.; LI, H.; LIN, T.; SÁNCHEZ, E.; LEUNG, P. Effects of temperature on the surface plasmon resonance at a metal–semiconductor interface. **Thin Solid Films**, Elsevier, v. 515, n. 17, p. 6953–6961, 2007.
- CLARK, L. C.; LYONS, C. Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 102, n. 1, p. 29–45, 1962.
- FALQUETO, A. **Estudo e implementação de um biossensor de Ressonância de Plásmons de Superfície baseado em smartphone**. Dissertação (Mestrado), 2019.
- FELTIS, B.; SEXTON, B.; GLENN, F.; BEST, M.; WILKINS, M.; DAVIS, T. A hand-held surface plasmon resonance biosensor for the detection of ricin and other biological agents. **Biosensors and Bioelectronics**, Elsevier, v. 23, n. 7, p. 1131–1136, 2008.
- FILHO, C. A. d. S. *et al.* Investigando como características desejáveis afetam o desempenho de perguntas sobre programação em sites de perguntas e respostas. Universidade Federal de Campina Grande, 2017.
- FILHO, C. A. de S. **Desenvolvimento de um Sistema Eletrônico de Aquisição e Processamento para Biossensores**. Tese (Doutorado) — MS thesis, Campina Grande: Universidade Federal de Campina Grande, 2006.
- GOMEZ-CRUZ, J.; NAIR, S.; MANJARREZHERNANDEZ, A.; GAVILANES-PARRA, S.; ASCANIO, G.; ESCOBEDO, C. Cost-effective flow-through nanohole array-based biosensing platform for the label-free detection of uropathogenic e. coli in real time. **Biosensors and Bioelectronics**, Elsevier, v. 106, p. 105–110, 2018.
- Grand View Research. **Biosensors Market Size, Share & Trends Analysis Report By Application (Medical, Agriculture, Bioreactor) By Technology (Thermal, Electrochemical, Optical), By End Use, By Region, And Segment Forecasts, 2020 - 2027**. 2020. Disponível em: <<https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/biosensors-market>>. Acesso em: 30 jun. 2020.

HELMERHORST, E.; CHANDLER, D. J.; NUSSIO, M.; MAMOTTE, C. D. Real-time and label-free bio-sensing of molecular interactions by surface plasmon resonance: a laboratory medicine perspective. **The Clinical Biochemist Reviews**, The Australian Association of Clinical Biochemists, v. 33, n. 4, p. 161, 2012.

HOMOLA, J. Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species. **Chemical reviews**, ACS Publications, v. 108, n. 2, p. 462–493, 2008.

HOMOLA, J.; PILIARIK, M. Surface plasmon resonance (spr) sensors. In: **Surface plasmon resonance based sensors**. [S.l.]: Springer, 2006. p. 45–67.

HU, J.; ZHU, M.; HU, J.; MIN, J. Novel design of a data acquisition and analysis system for surface plasmon resonance bioanalyzer using labview virtual instrument. In: **IEEE. 2009 9th International Conference on Electronic Measurement & Instruments**. [S.l.], 2009. p. 1–1031.

HULENS, D.; GOEDEME, T.; VERBEKE, J. How to choose the best embedded processing platform for on-board uav image processing? **Proceedings VISAPP 2015**, p. 1–10, 2015.

KIRSCH, J.; SILTANEN, C.; ZHOU, Q.; REVZIN, A.; SIMONIAN, A. Biosensor technology: recent advances in threat agent detection and medicine. **Chemical Society Reviews**, Royal Society of Chemistry, v. 42, n. 22, p. 8733–8768, 2013.

KRETSCHMANN, E.; RAETHER, H. *et al.* Radiative decay of non-radiative surface plasmons excited by light. **Z. Naturforsch. a**, v. 23, n. 12, p. 2135–2136, 1968.

LAKSONO, F.; SUPARDIANNINGSIH, M. A.; ABRAHA, K. Development of low cost and accurate memade sensor system based on surface plasmon resonance (spr). In: **J. Phys.: Conf. Ser.** [S.l.: s.n.], 2018. v. 1011, p. 012043.

LIEDBERG, B.; NYLANDER, C.; LUNDSTRÖM, I. Biosensing with surface plasmon resonance—how it all started. **Biosensors and Bioelectronics**, Elsevier, v. 10, n. 8, p. i–ix, 1995.

MARIANI, S.; MINUNNI, M. Surface plasmon resonance applications in clinical analysis. **Analytical and bioanalytical chemistry**, Springer, v. 406, n. 9-10, p. 2303–2323, 2014.

MASSON, J.-F. Portable and field-deployed surface plasmon resonance and plasmonic sensors. **Analyst**, Royal Society of Chemistry, 2020.

MOREIRA, C.; FALQUETO, A.; FREIRE, C.; FILHO, C. A. de S.; CRUZ, R. S. Study and Modeling of a Smartphone-Based SPR Biosensor Device Using Low Cost Biochip. In: . [S.l.]: VBRI PRESS, 2018–2019.

MOREIRA, C.; LIMA, A.; NEFF, H.; THIRSTRUP, C. Temperature-dependent sensitivity of surface plasmon resonance sensors at the gold–water interface. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 134, n. 2, p. 854–862, 2008. ISSN 0925-4005. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400508004450>>.

MOREIRA, C. d. S. **Projeto e realização de um biochip óptico para aplicações biológicas baseado no princípio de ressonância de plásmons de superfície**. Dissertação (Mestrado), 2010.

- MOREIRA, C. d. S.; OLIVEIRA, L. C.; FISCHER, R.; MEDEIROS, E. S.; LIMA, A. M. N.; NEFF, H. Polymer-based surface plasmon resonance biochip: construction and experimental aspects. **Research on Biomedical Engineering**, SciELO Brasil, v. 32, n. 1, p. 92–103, 2016.
- MOREIRA, C. S.; LIMA, A. M.; NEFF, H.; BARRETO, A.; LOUREIRO, F.; SOUZA, C.; LIMA, L. Biosensores: tecnologia e aplicações. In: **V Congresso Norte Nordeste de Pesquisa e Inovação**. [S.l.: s.n.], 2010.
- MOREIRA, C. S.; NETO, A. G. B.; LIMA, A. M.; THIRSTRUP, C.; NEFF, H. Exchangeable low cost polymer biosensor chip for surface plasmon resonance spectroscopy. **Procedia Chemistry**, Elsevier, v. 1, n. 1, p. 1479–1482, 2009.
- MOREIRA, L. F. **Caracterização e montagem de um sensor de ressonância de plasmon de superfície (SPR)**. Dissertação (Mestrado), 2016.
- NAIMUSHIN, A. N.; SOELBERG, S. D.; BARTHOLOMEW, D. U.; ELKIND, J. L.; FURLONG, C. E. A portable surface plasmon resonance (spr) sensor system with temperature regulation. **Sensors and Actuators B: Chemical**, Elsevier, v. 96, n. 1-2, p. 253–260, 2003.
- NAIR, S.; GOMEZ-CRUZ, J.; MANJARREZ-HERNANDEZ, Á.; ASCANIO, G.; SABAT, R. G.; ESCOBEDO, C. Rapid label-free detection of intact pathogenic bacteria in situ via surface plasmon resonance imaging enabled by crossed surface relief gratings. **Analyst**, Royal Society of Chemistry, v. 145, n. 6, p. 2133–2142, 2020.
- NENNINGER, G. G.; PILIARIK, M.; HOMOLA, J. Data analysis for optical sensors based on spectroscopy of surface plasmons. **Measurement Science and Technology**, IOP Publishing, v. 13, n. 12, p. 2038, 2002.
- OLIVEIRA, L. C. **Construção e caracterização de sensores SPR: influência da camada meálica e do substrato dielétrico**. Tese (Doutorado) — Tese (Tese de Doutorado) — Universidade Federal de Campina Grande, 2016.
- OLIVEIRA, L. C.; LIMA, A. M. N.; THIRSTRUP, C.; NEFF, H. F. **Surface plasmon resonance sensors: a materials guide to design and optimization**. [S.l.]: Springer, 2015.
- OLIVEIRA, L. C.; MOREIRA, C. da S.; THIRSTRUP, C.; MELCHER, E. U. K.; LIMA, A. M. N.; NEFF, H. A surface plasmon resonance biochip that operates both in the angular and wavelength interrogation modes. **IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement**, IEEE, v. 62, n. 5, p. 1223–1232, 2013.
- OLIVEIRA, L. C. *et al.* Sistema computacional para biossensor baseado na ressonância de plasma de superfície. Universidade Federal de Campina Grande, 2011.
- OTTO, A. Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection. **Zeitschrift für Physik A Hadrons and nuclei**, Springer, v. 216, n. 4, p. 398–410, 1968.
- PILIARIK, M.; VALA, M.; TICHÝ, I.; HOMOLA, J. Compact and low-cost biosensor based on novel approach to spectroscopy of surface plasmons. **Biosensors and Bioelectronics**, Elsevier, v. 24, n. 12, p. 3430–3435, 2009.

PREECHABURANA, P.; GONZALEZ, M. C.; SUSKA, A.; FILIPPINI, D. Surface plasmon resonance chemical sensing on cell phones. **Angewandte Chemie International Edition**, Wiley Online Library, v. 51, n. 46, p. 11585–11588, 2012.

RAMPAZZI, S.; DANESE, G.; LEPORATI, F.; MARABELLI, F. A localized surface plasmon resonance-based portable instrument for quick on-site biomolecular detection. **IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement**, IEEE, v. 65, n. 2, p. 317–327, 2015.

RASPBERRY, P. **Foundation, Raspberry Pi 3 model B**. 2018.

SABARMAN, H.; PRAMESTA, E.; TRIYANA, K. Building up of surface plasmon resonance instrument using spreeta 2000 and arduino mega 2560. **Applied Mechanics and Materials**, v. 771, p. 25–28, 07 2015.

SCHASFOORT, R. B. **Handbook of surface plasmon resonance**. [S.l.]: Royal Society of Chemistry, 2017.

SOMARAPALLI, M.; KOUL, K.; LAHON, R.; BOONRUANG, S.; MOHAMMED, W. S. Demonstration of low-cost and compact spr optical transducer through edge light coupling. **Micro & Nano Letters**, IET, v. 12, n. 9, p. 643–646, 2017.

SOUSA, T. A. de; OLIVEIRA, L. C.; LOUREIRO, F.; LIMA, A. M.; NEFF, H. Evaluating the signal processing chain employed in surface plasmon resonance biosensing. In: **IEEE. 2014 IEEE International Instrumentation and Measurement Technology Conference (I2MTC) Proceedings**. [S.l.], 2014. p. 1606–1611.

Souza Filho, C. A. d.; Lima, A. M. N.; Neff, H. Smartphone based, portable optical biosensor utilizing surface plasmon resonance. In: **2014 IEEE International Instrumentation and Measurement Technology Conference (I2MTC) Proceedings**. [S.l.: s.n.], 2014. p. 890–895.

TELEZHNIKOVA, O.; HOMOLA, J. New approach to spectroscopy of surface plasmons. **Optics letters**, Optical Society of America, v. 31, n. 22, p. 3339–3341, 2006.

THIRSTRUP, C.; ZONG, W.; BORRE, M.; NEFF, H.; PEDERSEN, H.; HOLZHÜTER, G. Diffractive optical coupling element for surface plasmon resonance sensors. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 100, p. 298–308, 05 2004.

TURNER, A. P. Biosensors: sense and sensibility. **Chemical Society Reviews**, Royal Society of Chemistry, v. 42, n. 8, p. 3184–3196, 2013.

UGALMUGLE, R. S. S. **Biosensors Market Share Forecasts 2019-2025**. Global Market Insights, 2019. Base Year: 2018. Report ID: GMI747. Disponível em: <<https://www.gminsights.com/industry-analysis/biosensors-market>>. Acesso em: 16 jul. 2020.

VESTRI, A.; MARGHERI, G.; LANDINI, E.; MEACCI, E.; TIRIBILLI, B. A versatile and compact surface plasmon resonance spectrometer based on single board computer. **Review of Scientific Instruments**, AIP Publishing LLC, v. 91, n. 1, p. 013106, 2020.

VOICHITA, G. R.; VOICULESCU, E.; CENNAMO, N.; LUONGO, L.; ZENI, L. Augmented workplace for spr sensor application. In: **IEEE. 2016 IEEE Sensors Applications Symposium (SAS)**. [S.l.], 2016. p. 1–4.

WANG, C.; AL. et. An automatic multi-thread image segmentation embedded system for surface plasmon resonance sensor. **Sensors and Actuators A: Physical**, Elsevier, v. 285, p. 603–612, 2019.

WOLF, M. **Computers as components: principles of embedded computing system design**. [S.l.]: Elsevier, 2012.

WOOD, R. W. Xlii. on a remarkable case of uneven distribution of light in a diffraction grating spectrum. **The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science**, Taylor & Francis, v. 4, n. 21, p. 396–402, 1902.

APÊNDICE A – DESIGN DO PROJETO V1.0

O presente trabalho foi submetido e aceito na conferencia internacional *SB-MO/IEEE MTT-S International Microwave and Optoelectronics Conference (IMOC)* 2021. O título do artigo é *Project of a portable surface plasmons resonance sensor based on single-board computer*.

Project of a portable surface plasmons resonance sensor based on single-board computer

Amanda Kélvia de Lima Freitas¹ and Leiva Casemiro Oliveira¹,

¹ Graduate Program in Electrical Engineering, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, RN, Brazil

Driven by a series of technological advances, single-board computer (SBC) lead a strong trend in the development of portable and low-cost devices for the analysis of substances in real time and point-of-care testing (PoCT). Due a several advantages, the surface plasmons resonance (SPR) based sensors drove the creation of new portable biosensors. This work proposes the development of an SPR sensor based in SBC and using the low-cost brazilian biochip /prims, called PPBIO, as the sensor element. For processing, analysis and control of the sensor a single-board platform Raspberry Pi is applied. The proposed sensor has a display to allow interactions with the user and electronic adjustment of the optical components. The partial implementation cost of this project is R\$1,600.00 and its dimensions are 170 × 110 × 100 mm. A detection limit of 10⁻⁵ RIU is expected to be reached.

Index Terms—Optical Sensor, Surface Plasmon Resonance, PPBIO, Raspberry Pi, Single-Board Computer (SBC).

I. INTRODUCTION

Surface plasmons Ressonance sensors (SPR) has been widely explored as an alternative for detecting molecular interactions and for characterization of aqueous and gaseous solutions. The SPR is a non-invasive and label-free technique that allows real-time monitoring of biological interactions, and the concentration of an analyte in a solution by converting the refractive index (IR) variation into electrical signals. Furthermore, these sensors also have a high degree of sensitivity and high reproducibility [1].

Since the first reporting of the SPR as a biosensor technology in 1982, numerous alternatives of SPR sensors design emerged, resulting in a variety of commercial solutions for diagnosing diseases, easy-to-operate equipment, and minimizing the need for specialized labor. A series of works related to medical diagnosis, pharmaceutical research, environmental monitoring, toxin detection, food quality control, among other areas, report the use of SPR in the detection of DNA, proteins, viruses, bacteria, and other substances can be found elsewhere [2], [3], [4].

Traditionally employed as a inside laboratory tool, the cost of SPR equipments can vary from US\$10,000.00 to US\$5,000,000.00, while the resolution varies from 10⁻⁵ RIU (Refractive Index Unit) to 10⁻⁷RIU [5], and require trained professionals, specific laboratories and are considerably expensive [6].

Recently efforts in portable sensor development are on the rise, through smartphones [7], [8] and single-board computers (SBC) [9], [10] as instrumentation solution. Regarding to SBC, the high-performance hardware, modern operational system and features capabilities, enable the development of compact and powerful mobile sensors, with low cost instrumentation.

Thus, the present work intends to develop a portable and low-cost SPR sensor based on the so-called PPBIO prism [11] for the surface plasmons excitation, and on the prototyping platform *Raspberry Pi*.

II. PROJECT DESIGN

This proposed project is divided into three main fronts: mechanical structure, hardware and software. The structure of the complete prototype modeled in 3D is illustrated in Figure 1.

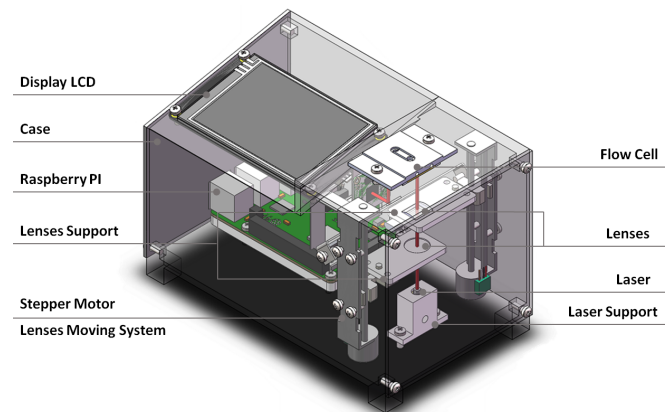


Fig. 1: Perspective view of the prototype structure.

A. Mechanical Structure Design

The mechanical structure was designed with a focus on achieving a small and portable design. This structure has dimensions of approximately 170 × 110 × 100 mm and is subdivided into i) prototype case, ii) flow-cell piece and iii) lens movement system. The case enclosure/hold all the elements of the portable sensor. It was optimized to hold the optical components, the PPBIO prism, the flow cell, and mechanical & electronic elements (laser, camera, SBC, touchscreen, power supply etc).

The so-called PPBIO is used for surface plasmon excitation. Figure 2 shown the PPBIO operating in the angular interrogation mode [11]. PPBIO has a trapezoidal structure and reduced dimensions (22 × 10 × 3 mm) allowing up to 10 different sensitive spots. The inclined faces reflect the fan

in/fan out light source. Incident light at a fixed angle of 68° and upper surface covered with a 50 nm thin metal layer (gold), accounts for the low maintenance and robustness. This feature also avoids the use of gel/coupling liquid, which causes considerable instrumentation costs. For more details of the SPR PPBIO based sensor, we refer [12], [13].

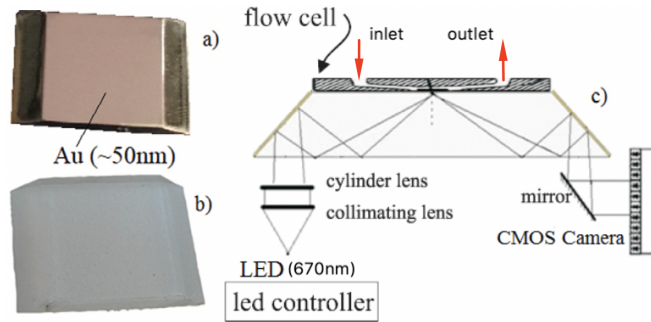


Fig. 2: PPBIO images (a) with and (b) without metal layer. (c) Sketch of the optical path and SPR excitation.

To enclosure all the electronic components inside the case, it was necessary to use a mirror to reflect the light beam to the camera and thus be able to capture the sensing data (SPR image).

The movement of optical components is performed without human interference. An optical-component movement system was designed using linear guides and stepper motors. These guides are designed to move the loads (lenses support pieces) along the rail smoothly and precisely. The support pieces are coupled to the trapezoidal thread spindles and guide the displacement of the components.

The flow cell aims to confine and deliver the injected substance under analysis into the sensitive metallic surface of the PPBIO. It is installed above the PPBIO prism and firmly attached to the sensing biochip with an o-ring to prevent analyte leaking. It has $7\mu\text{L}$ volume in a 1 mm^2 contact area with the metal-layer. The entire piece dimensions are $46 \times 30 \times 6\text{ mm}$ and have two 2 mm cylindrical holes extended through the interior of the flow cell to direct the analyte to the prism surface. Two Teflon tubings are employed to create the flow channels and connect the flow cell to a peristaltic pump, for solutions propulsion and delivery. This way, it is possible to inject the analyte in one of the channels, and in the other, this substance can be easily ejected.

Finally, the LCD touchscreen display is fitted from the top. Along with the PPBIO and the flow cell, are the only components that hold externally to the case.

B. Hardware

In recent years, significant developments in the hardware capabilities of the so-called SBC [14] have been found. These low-cost computers have small dimensions, can run modern operating systems, enable to handle conventional workloads as well image processing tasks.

The *Raspberry Pi 3 B+* is used as the SBC solution. The *Raspberry Pi* board has low power consumption, low weight, and small dimensions. It has a Quad-Core 1.2GHz Broadcom

BCM2837 64bit CPU, with 1GB RAM and a specific camera connection. The *Raspberry Pi v2.1* Camera is employed. It is responsible for image acquisition. This camera is compatible with the *Raspberry Pi* and has a resolution of 8MP. Has a Sony IMX219 sensor and onboard fixed focus lens, being able to capture still images of up to 3280×2464 pixels¹.

The Nextion NX4832t035 touch-screen display is used as the user interface. This display has a 3.5" screen, is compatible with the *Raspberry Pi* and communicates with it via the RS-485 bus communication.

For optical excitation of the phenomenon, components supplied by Thorlabs are used in the set-up: a laser diode HL6748MG with a wavelength of 670 nm and 10 mW of power; a Fresnel lens FRP0510 and a flat-convex lens cylindrical LJ1960L1, both manufactured with glass N-BK7. In addition, DVD-ROM driver stepper motors are used in the lens movement system.

The system architecture is illustrated on Figure 3.

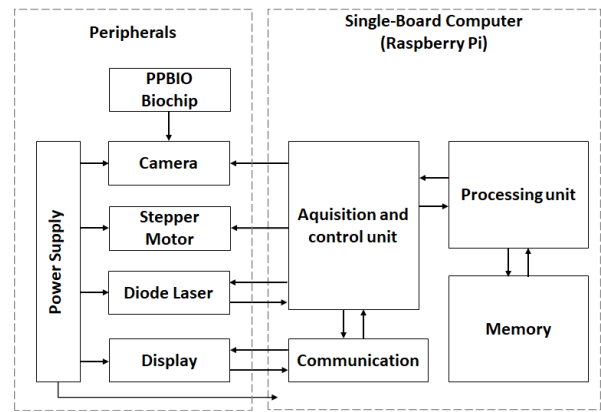


Fig. 3: System architecture.

C. Software Project

To perform data acquisition and data processing, proper software was embedded into the *Raspberry Pi*. Developed using the programming language *Python*, the software is responsible for controlling the sensor's electronic components, performing the acquisition of images reflected by the PPBIO, processing and storing the acquired information, and also exhibition the real-time information on a friendly user interface.

The human-machine interface (HMI) was built to be the simplest and easiest to manipulate to avoid usage errors and thus increase user satisfaction with the system. It is illustrated in Figure 4.

When the program starts running, the Menu screen is displayed. On this screen the user can choose between five options: "About" to access information related to the project and to brief the experimental proceeding; "Calibration" to calibrate the sensor, allows the user to configure the reference signal for system calibration; "Adjust" to adjust the lens on the Z axis in order to get a better response, and preview the "SPR curve" and the "Sensorgram" graph. The SPR Curve screen

¹Raspberry Foundation, raspberry pi 3 model b, 2018

aims to capture the image reflected by the PPBIO biochip in real-time, process it, and display the processing data to the user. The Sensorgram shows the time evolution of the extracted features of the SPR curve.

The *Plot* button is responsible for starting the image acquisition routine. At the end of this command, the SPR curve graphs and extracted values are displayed. Before starting the SPR curve acquisition routine, it is necessary to choose the image analysis and processing methods. To this, buttons were created and position on the right side of the HMI. The user can configure the "method of smoothing" and "minimum detection" algorithms. After processing, the image is displayed in a graph and the extracted curve features asymmetry, width, and minimum/resonance position are illustrated in the lower right corner of the screen. The user can still request the download of the acquired information, and also clear the screen data, by clicking the *Save Curve* and *Clear* buttons respectively. The SPR curve data is stored in a memory card and identified by the date and time of storage.

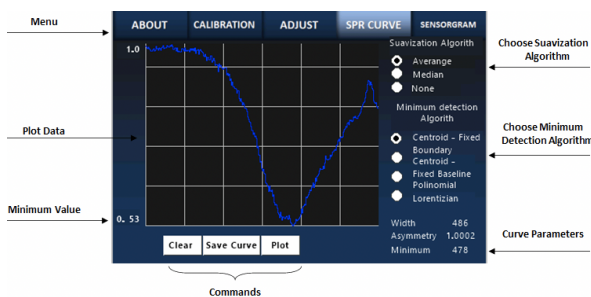


Fig. 4: Human-machine interface screen. Detail for the SPR curve.

1) Data processing

After smoothing and the detection method of resonance conditions are setting in the user interface, the experimental routine begins and the user is able to start the acquisition process. The data is saved in data-series format to a memory card, and can be accessed later. The pre-processing of the acquired data takes place immediately after the images are read by the camera. Initially, the data is segmented and the output signal is obtained by averaging the R-channel image lines. The normalized SPR curve is obtained by dividing the data from the previous processing by the reference signal (from calibration proceedings).

It is also possible to use a smoothing filter to reduce noise interference. These filters can be applied before displaying the chart, and two methods are available: mean and median. Through these data, the desired parameters such as resonance pixel and angle, curve width, asymmetry are calculated.

The partial budget for developing the embedded solution project is R\$1,600.00. So far only the parts that make up the system hardware and some structural parts have been budgeted. The costs related to the construction of the sensor structure will be added later.

III. CONCLUSION

The present work has the partial objective of presenting a proposal for the development of a portable SPR sensor based

on a single-board computer using the PPBIO prism. The idea is to create a flexible SPR sensor, which allows the sensing of substances in remote and inaccessible places. For this, three main fronts were proposed: hardware, software design, and mechanical structure.

A methodology for the sensor solution was shown, indicating details of each part of the project. The basic fundamental principles of biosensors based on surface plasmon resonance were presented, highlighting the works based on portable platforms. The proposed sensor objective is to be a reliable prototype, avoiding possible failures in the implementation and rework phase. Based on this, the project requirements and specifications were proposed and then the solutions for hardware, software and mechanical are design.

The embedded solution has an image processing system and measures approximately 170 × 110 × 100 mm. Although we have made some advances in the design of the SPR sensor, it is still necessary to implement an algorithm for lens movement, to perform automatic displacement, improves 3D print routines and software capabilities.

ACKNOWLEDGMENT

The authors thank UFERSA for the financial support and research grants.

REFERENCES

- [1] S. Mariani and M. Minunni, "Surface plasmon resonance applications in clinical analysis," *Analytical and bioanalytical chemistry*, vol. 406, no. 9-10, pp. 2303-2323, 2014.
- [2] J. Homola, "Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species," *Chemical reviews*, vol. 108, no. 2, pp. 462-493, 2008.
- [3] N. Cennamo and et. al., "A complete optical sensor system based on a pof-spr platform and a thermo-stabilized flow cell for biochemical applications," *Sensors*, vol. 16, no. 2, p. 196, 2016.
- [4] J.-F. Masson, "Portable and field-deployed surface plasmon resonance and plasmonic sensors," *Analyst*, 2020.
- [5] C. Zhang, C.-J. Chen, K. Settu, and J.-T. Liu, "Angle-scanning surface plasmon resonance system with 3d printed components for biorecognition investigation," *Advances in Condensed Matter Physics*, vol. 2018, pp. 1-7, 07 2018.
- [6] E. Helmerhorst, D. J. Chandler, M. Nussio, and C. D. Mamotte, "Real-time and label-free bio-sensing of molecular interactions by surface plasmon resonance: a laboratory medicine perspective," *The Clinical Biochemist Reviews*, vol. 33, no. 4, p. 161, 2012.
- [7] Z. Geng and et. al., "Recent progress in optical biosensors based on smartphone platforms," *Sensors*, vol. 17, no. 11, 2017.
- [8] E. S. D. Silva, L. C. D. Souza, and L. C. Oliveira, "Mobilespr app and case: a combined logical and mechanical solution for surface plasmon resonance sensors based on smartphone," *IEEE Sensors Journal*, vol. 21, no. 15, pp. 16 613-16 620, 2021.
- [9] A. Vestri and et. al., "A versatile and compact surface plasmon resonance spectrometer based on single board computer," *R.ev. Sci. Instrum.*, vol. 91, 2020.
- [10] C. Wang and et. al., "An automatic multi-thread image segmentation embedded system for surface plasmon resonance sensor," *Sensors and Actuators A: Physical*, vol. 285, pp. 603-612, 2019.
- [11] L. C. Oliveira and et. al., "A surface plasmon resonance biochip that operates both in the angular and wavelength interrogation modes," *IEEE TIM*, vol. 62, no. 5, pp. 1223-1232, 2013.
- [12] L. C. Oliveira, A. M. N. Lima, C. Thirstrup, and H. F. Neff, *Surface Plasmon Resonance Sensors: A Materials Guide to Design, Characterization, Optimization, and Usage*, 2nd ed. Springer, 2019.
- [13] C. Moreira and et al., "Polymer-based surface plasmon resonance biochip: construction and experimental aspects," *P. Res. Biomed. Eng.*, vol. 32, p. 92-103, 2016.
- [14] P. J. Basford and et. al., "Performance analysis of single board computer clusters," *Future Generation Computer Systems*, vol. 102, pp. 278-291, 2020.

APÊNDICE B – CONFIGURAÇÕES DE IMPRESSÃO 3D

B.1 Célula de Fluxo

```

1 PK      ! * 8          creality_ender3_celulas_de_fluxo [
   general]
2 version = 4
3 name = CELULAS DE FLUXO
4 definition = creality_base
5
6 [metadata]
7 type = quality_changes
8 quality_type = standard
9 setting_version = 19
10
11 [values]
12 adhesion_type = raft
13 layer_height = 0.08
14 layer_height_0 = 0.08
15 material_bed_temperature = 110
16 support_enable = False
17
18 PK      !      k0      0 ,   creality_base_extruder_0_#2
   _celulas_de_fluxo [general]
19 version = 4
20 name = CELULAS DE FLUXO
21 definition = creality_base
22
23 [metadata]
24 type = quality_changes
25 quality_type = standard
26 intent_category = default
27 position = 0

```

```

28 setting_version = 19
29
30 [values]
31 cool_fan_enabled = False
32 infill_sparse_density = 20
33 material_print_temperature = 235
34 raft_margin = 8
35
36 PK          ! * 8
    creality_ender3_celulas_de_fluxoPK          !      k0      0
    ,          W      creality_base_extruder_0_#2
    _celulas_de_fluxoPK

```

B.2 Base da câmera

```

1 PK          ! a?          creality_ender3_base_camera[
    general]
2 version = 4
3 name = base camera
4 definition = creality_base
5
6 [metadata]
7 type = quality_changes
8 quality_type = standard
9 setting_version = 19
10
11 [values]
12 adhesion_type = brim
13 layer_height = 0.24
14 material_bed_temperature = 110
15 support_enable = True
16

```

```

17 PK          ! o = 4 4 '   creality_base_extruder_0_#2
    _base_camera[general]
18 version = 4
19 name = base camera
20 definition = creality_base
21
22 [metadata]
23 type = quality_changes
24 quality_type = standard
25 intent_category = default
26 position = 0
27 setting_version = 19
28
29 [values]
30 cool_fan_enabled = False
31 gradual_infill_steps = 0
32 infill_sparse_density = 30
33 material_print_temperature = 235
34
35 PK          ! a?
    creality_ender3_base_cameraPK          ! o = 4 4 '
          6   creality_base_extruder_0_#2
    _base_cameraPK

```

B.3 Suportes da célula de fluxo

```

1 PK          ! K XD          creality_ender3_prisma_suporte
    [general]
2 version = 4
3 name = prisma suporte
4 definition = creality_base
5

```

```

6 [metadata]
7 type = quality_changes
8 quality_type = standard
9 setting_version = 19
10
11 [values]
12 adhesion_type = raft
13 material_bed_temperature = 110
14 support_enable = True
15
16 PK          !          -          *          creality_base_extruder_0_#2
           _prisma_suporte[general]
17 version = 4
18 name = prisma suporte
19 definition = creality_base
20
21 [metadata]
22 type = quality_changes
23 quality_type = standard
24 intent_category = default
25 position = 0
26 setting_version = 19
27
28 [values]
29 cool_fan_enabled = False
30 infill_sparse_density = 35
31 material_print_temperature = 235
32
33 PK          ! K X D
           creality_ender3_prisma_suportePK          !          -          *
           ( creality_base_extruder_0_#2
           _prisma_suportePK

```

B.4 Tampa superior e case

```
1 PK      ! s P      creality_ender3_tampa [general
  ]
2 version = 4
3 name = tampa
4 definition = creality_base
5
6 [metadata]
7 type = quality_changes
8 quality_type = standard
9 setting_version = 19
10
11 [values]
12 adhesion_type = brim
13 layer_height = 0.2
14 material_bed_temperature = 110
15 support_enable = True
16
17 PK      ! E Vu. . !      creality_base_extruder_0_#2_tampa
  [general]
18 version = 4
19 name = tampa
20 definition = creality_base
21
22 [metadata]
23 type = quality_changes
24 quality_type = standard
25 intent_category = default
26 position = 0
27 setting_version = 19
28
```

```

29 [values]
30 cool_fan_enabled = False
31 gradual_infill_steps = 0
32 infill_sparse_density = 30
33 material_print_temperature = 235
34
35 PK          ! s P
          creality_ender3_tampaPK          ! E Vu. . !
          ) creality_base_extruder_0_#2_tampaPK

```

B.5 Demais peças

```

1 PK          ! {          creality_ender3_parede_direita[
      general]
2 version = 4
3 name = parede direita
4 definition = creality_base
5
6 [metadata]
7 type = quality_changes
8 quality_type = standard
9 setting_version = 19
10
11 [values]
12 adhesion_type = brim
13 layer_height = 0.24
14 material_bed_temperature = 110
15 support_enable = True
16
17 PK          ! %}M J J * creality_base_extruder_0_#2
          _parede_direita[general]
18 version = 4

```

```
19 name = parede direita
20 definition = creality_base
21
22 [metadata]
23 type = quality_changes
24 quality_type = standard
25 intent_category = default
26 position = 0
27 setting_version = 19
28
29 [values]
30 cool_fan_enabled = True
31 cool_fan_speed = 30
32 gradual_infill_steps = 0
33 infill_sparse_density = 30
34 material_print_temperature = 235
35
36 PK      !      {
          creality_ender3_parede_direitaPK      ! %}M J J *
          < creality_base_extruder_0_#2
          _parede_direitaPK
```

APÊNDICE C – ORÇAMENTO DO PROTÓTIPO

Tabela 5 – Orçamento do material utilizado no projeto

Descrição do produto	Quantidade	Valor	Valor Total
Raspberry Pi 3 - <i>Model B</i>	1	R\$ 1300,00	R\$ 1300,00
Câmera Pi v2.1	1	R\$ 79,99	R\$ 79,99
FRP0510 - Lente de Fresnel	1	R\$ 112,98	R\$ 112,98
Lente cilíndrica de vidro N-BK7	1	R\$ 344,10	R\$ 344,10
LCD 7"Raspberry	1	R\$ 999,90	R\$ 999,90
HL6748MG - Diodo Laser Oclaro	1	R\$ 323,04	R\$ 323,04
Motor de passo (Reciclado)	2	R\$ 0,00	R\$ 0,00
Fonte 12V 5A 110/220VAC P4	1	R\$ 39,90	R\$ 39,90
Driver do Motor de Passo A4988	2	R\$ 16,90	R\$ 33,80
Módulo Regulador de Tensão Ajustável LM2596	1	R\$ 13,90	R\$ 13,90
Barra de 40 Pinos Macho 15mm 180º	2	R\$ 1,50	R\$ 3,00
Barra de Pinos Empilhável - 8 Pinos	4	R\$ 2,20	R\$ 8,80
Placa Perfurada 5x7cm	1	R\$ 4,90	R\$ 4,90
Conector Jack P4 Fêmea DC-022 5.5x2.1mm	1	R\$ 1,50	R\$ 1,5
Filamento para impressão 3D	1	R\$ 169,50	R\$ 169,50
Total			R\$ 3410,31

* Cotação de preços realizada em março de 2021.