

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO GRANDE DO NORTE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA COMPUTAÇÃO

ELIZEU SANDRO DA SILVA

MOBILESPR APP E MOBILESPR CASE: UMA COMBINAÇÃO DE SOLUÇÃO LÓGICA E MECÂNICA PARA SENSORES DE RESSONÂNCIA DE PLASMONS DE SUPERFÍCIE BASEADA EM SMARTPHONES

MOSSORÓ-RN

2021

ELIZEU SANDRO DA SILVA

MOBILESPR APP E MOBILESPR CASE: UMA COMBINAÇÃO DE SOLUÇÃO LÓGICA E MECÂNICA PARA SENSORES DE RESSONÂNCIA DE PLASMONS DE SUPERFÍCIE BASEADA EM SMARTPHONES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência da Computação - Associação ampla entre a Universidade do Estado do Rio Grande do Norte e a Universidade Federal Rural do Semi-Árido, para a obtenção do título de Mestre em Ciência da Computação.

Orientador: Prof^a Dr. Leiva Casemiro Oliveira Coorientador: Prof^o Dr. Leandro Carlos de Souza

MOSSORÓ-RN 2021

© Todos os direitos estão reservados a Universidade do Estado do Rio Grande do Norte. 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. 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.

Catalogação da Publicação na Fonte. Universidade do Estado do Rio Grande do Norte.

S586m	Silva, Elizeu Sandro da MOBILESPR APP E MOBILESPR CASE: UMA COMBINAÇÃO DE SOLUÇÃO LÓGICA E MECÂNICA PARA SENSORES DE RESSONÂNCIA DE PLASMONS DE SUPERFÍCIE BASEADA EM SMARTPHONES. / Elizeu Sandro da Silva Mossoró, 2021. 82p.				
	Orientador(a): Prof. Dr. Leiva Casemiro Oliveira. Coorientador(a): Prof. Dr. Leandro Carlos de Souza. Dissertação (Mestrado em Programa de Pós- Graduação em Ciência da Computação). Universidade do Estado do Rio Grande do Norte.				
	1. Ressonância de Plasmons de Superfície. 2. Smartphones. 3. Infraestrutura para biossensores. 4. MobileSPR App e MobileSRP Case. I. Oliveira, Leiva Casemiro. II. Universidade do Estado do Rio Grande do Norte. III. Título.				

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC´s) foi desenvolvido pela Diretoria de Informatização (DINF), sob orientação dos bibliotecários do SIB-UERN, para ser adaptado às necessidades da comunidade acadêmica UERN.

ELIZEU SANDRO DA SILVA

MOBILESPR APP E MOBILESPR CASE: UMA COMBINAÇÃO DE SOLUÇÃO LÓGICA E MECÂNICA PARA SENSORES DE RESSONÂNCIA DE PLASMONS DE SUPERFÍCIE BASEADA EM SMARTPHONES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência da Computação para a obtenção do título de Mestre em Ciência da Computação.

APROVADA EM: 25 / 02 / 2021

BANCA EXAMINADORA

diva asi-ro, livera

Prof^o Dr. Leiva Casemiro Oliveira Orientador (Presidente) - UFERSA

Deandres C. Souza

Prof^o Dr. Leandro Carlos de Souza Coorientador - UFPB

Silvio K. Fersandes

Prof^o Dr. Sílvio Roberto Fernandes de Araújo Avaliador do Programa

Prof^o Dr. Antonic Marcus Nogueira Lima

Examinador Externo - UFCG

Dedico esse trabalho aos meus pais, Edson Machado da Silva e Sandra Regina Delgado Silva, que me apoiaram e me incentivaram desde o início.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Resumo

Sensores ópticos baseados na ressonância de plasmons de superfície (SPR - Surface Plasmon *Ressonance*), são dispositivos utilizados para analisar interações moleculares resultantes da interação ressonante dos fótons com os elétrons livres, presentes em materiais metálicos. Esses sensores são ferramentas poderosas para realizar a caracterização de interações biomoleculares, como também em aplicações de detecção de agentes patológicos, qualidade de alimentos, descoberta de drogas e qualidade de combustíveis. O que os limita como ferramentas de campo são suas dimensões, a necessidade do uso de fonte energética e a necessidade de equipamentos sofisticados. Uma tendência crescente e amplamente utilizada é o uso de plataformas portáteis, como os *smartphones*. Esses sensores dispõem de grande poder tecnológico, como câmeras de alta qualidade, processadores de alto desempenho e outros recursos que o tornam gadgets atrativos. Além de possuírem sistemas operacionais potentes que viabilizam ao usuário a utilização de algoritmos eficazes e de alta complexidade. Desta forma, neste trabalho foi desenvolvido o MobileSPR App e MobileSPR Case, uma solução integrada de Estrutura Mecânica para Acoplamento (EMA) e software embarcado, baseada no uso de *smartphones* para a análise de ressonância de *plasmons* de superfície, que pode proporcionar ao pesquisador a flexibilidade no uso em ambientes diversos. O MobileSPR Case, caracteriza-se como uma estrutura mecânica projetada especialmente para conter todos os elementos ópticos no *smartphone* para arquivar a excitação do *plasmon* de superfície. Fabricado em uma impressora 3D, o case se encaixa na parte superior e é ajustável para várias disposições de câmeras frontais. Composto por duas partes, facilita o processo de substituição do *smartphone*, além de habilitar biochips mais finos e mais espessos para excitação de *plasmon* de superfície. O MobileSPR App, apresenta-se como um aplicativo mobile que controla a fonte de luz, câmera, processo de dados, informação exibida e armazenamento de resultados, evita componentes extras para criar uma solução SPR portátil. O App permite a manipulação dos feixes de luz fornecidos pela tela do smartphone, que podem variar entre 380nm a 780nm, permitindo o uso com biochips de diferentes materiais, camada metálica e configurações. A viabilidade da infraestrutura foi testada com uso de um *smartphone* Xiaomi MI 9 Lite foi usado. Tanto um biochip plano (fino) quanto trapezoidal (mais espesso) operando na interrogação angular foram anexados na solução MobileSPR Case & App, e substâncias adicionais foram exploradas experimentalmente.

Palavras-chave: ressonância de *plasmons* de superfície, *Smartphones*, infraestrutura baseada em *smartphones*, MobileSPR App e MobileSRP Case.

Abstract

Optical sensors based on surface plasmon resonance (SPR - Surface Plasmon Ressonance), are devices used to analyze molecular interactions resulting from the resonant interaction of photons with free electrons, present in metallic materials. These sensors are powerful tools for performing the characterization of biomolecular interactions, as well as pathological agent detection, food quality, drug discovery and fuel quality applications. What limits them as field tools are their dimensions, the need to use an energy source and the need for sophisticated equipment. A growing and widely used trend is the use of portable platforms such as smartphones. These sensors have great technological power, such as high quality cameras, high performance processors and other features that make them attractive gadgets. In addition to having powerful operating systems that enable the user to use efficient and highly complex algorithms. Thus, in this work, the MobileSPR App and MobileSPR Case were developed, an integrated Mechanical Structure for Coupling and embedded software solution, based on the use of smartphones for surface plasmon resonance analysis, which can provide the researcher with flexibility in use in diverse environments. . The MobileSPR Case is characterized as a mechanical structure specially designed to contain all optical elements in the smartphone to file surface plasmon excitation. Made on a 3D printer, the case fits on top and is adjustable for various front-facing camera arrangements. Composed of two parts, it facilitates the smartphone replacement process, as well as enabling thinner and thicker biochips for surface plasmon excitation. The MobileSPR App, presented as a mobile application that controls the light source, camera, data process, displayed information and results storage, avoids extra components to create a portable SPR solution. The App allows the manipulation of light beams provided by the smartphone screen, which can vary between 380nm to 780nm, allowing use with biochips of different materials, metallic layer and configurations. The viability of the infrastructure was tested using a Xiaomi MI 9 Lite smartphone was used. Both a flat (thin) and trapezoidal (thicker) biochip operating at the angular interrogation were attached to the MobileSPR Case & App solution, and additional substances were explored experimentally.

Keywords: surface plasmon resonance, smartphones, infrastructure for biosensors, MobileSPR App and MobileSRP Case.

Lista de ilustrações

Figura 1 –	Imagem do sensor LSPR - SPR localizado
Figura 2 –	Imagem do sensor Sensor SPRi
Figura 3 –	Esquema do sensor SPR com estrutura de fibra óptica baseado em
	smartphone
Figura 4 –	Célula de fluxo do sensor SPR de fibra óptica
Figura 5 –	Sistema WIM SPR
Figura 6 –	Estrutura completa do biossensor e suporte
Figura 7 –	Esquema 3D da estrutura de integração biossensor ao <i>smartphone</i> 21
Figura 8 –	Estrutura do sensor óptico multicamada SPR baseado em prisma pro-
	posto por Kretschmann e Raether (1968)
Figura 9 –	Gráfico com a curva SPR formada e a obtenção dos valores de refletivi-
	dade do meio
Figura 10 -	- Sensograma experimental com H_2O , BSA e Hipoclorito de sódio 29
Figura 11 -	- Comparativo do sinal com diferentes aplicações de filtros. a) dados sem
	filtros, b) média temporal, c) mediana espacial e d) filtro passa-baixa $\ . \ 31$
Figura 12 -	- Fluxo da metodologia do trabalho
Figura 13 -	- <i>Design</i> do prisma polimérico PPBIO
Figura 14 -	- $Dseign$ do Virchip
Figura 15 -	- MobileSPR App - Resumo geral do modo <i>View.</i>
Figura 16 -	- MobileSPR App - Barra de botões de ação
Figura 17 -	- MobileSPR App - Detalhes para as opções disponíveis ao selecionar
	suavização e mínimo
Figura 18 -	- MobileSPR App - Opção disponível da configuração da fonte de luz
	emitida pelo display do smartphone
Figura 19 -	- MobileSPR App - Seletor de comprimento de onda
Figura 20 -	- MobileSPR App - Diagrama de Componentes
Figura 21 -	- MobileSPR App - Fluxograma
Figura 22 -	- MobileSPR Case 1.0 - visão panorâmica
Figura 23 -	- Plataforma de suporte do MobileSpr Case
Figura 24 -	- Gaveta para lentes
Figura 25 -	- Célula de Fluxo do MobileSpr Case
Figura 26 -	- Mancal do MobileSpr Case
Figura 27 -	- Clip adaptador do MobileSPR App
Figura 28 -	- Integração do Mobile SPR App com o Mobile SPR Case versão 1.0 53
Figura 29 -	- MobileSPR Case 1.1 - visão panorâmica
Figura 30 -	- MobileSPR Case 1.1 - visão geral superior

Figura	31 -	MobileSPR Case 1.1 - parte inferior.	55
Figura	32 -	MobileSPR Case 2.0 - visão geral	56
Figura	33 -	MobileSPR Case 2.0 - Base. \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots \ldots	57
Figura	34 -	MobileSPR Case 2.0 - Plataforma de Suporte	58
Figura	35 -	MobileSPR Case - Montagem com o Virchip	59
Figura	36 -	MobileSPR App - simulação da troca de substâncias na superfície do	
		biochip, por meio do deslocamento da imagem com a dimensão escura	
		da esquerda para esquerda.	61
Figura	37 -	Mobile SPR App - Representação dos valores mínimos das curvas SPR	
		simuladas no aplicativo.	62
Figura	38 -	Sinal da célula seca $(Dry \ Cell)$ capturado pelo aplicativo	63
Figura	39 -	Sinais de saída do experimento após o gotejamento das substâncias	
		(<i>Wet Cell</i>) capturados pelo aplicativo.	64

Lista de tabelas

Tabela 1 –	Sensores SPR baseados em <i>smartphones</i>	22
Tabela 2 –	Modelos mais vendidos de <i>Smartphones</i>	35
Tabela 3 –	Resumo das Funcionalidades	41
Tabela 4 –	Conversão de comprimento de onda (nm) para coloração (Hex). \ldots .	45
Tabela 5 –	Comparativo dos modelos do Mobile SPR Case desenvolvidos	60
Tabela 6 –	Comparativo dos parâmetros de refletividade mínima, largura, assime-	
	tria e energia total das curvas SPR obtidas através de experimentos	
	com as substâncias H2O e NaClO	64

Lista de abreviaturas e siglas

- ABS Acrylonitrile Butadiene Styrene AIM Angular Interrogation Mode ATR Attenuated Total Reflection BSA Bovine Serum Albumin CCD charge-coupled device DOCE Diffractive Optical Coupling Element EMA Estrutura Mecânica para Acoplamento IDE Integrated Development Environment IgG Imunoglobulina GIM Intensity Mode IR Indice de Refração LED Light-emitting Diode LOC Lab-on-chip LSPR Localized Surface Plasmon Resonance PDMS Polidimetilsiloxano PLA Polylactic Acid PPBIO Prisma Polimérico para aplicações BIOlógicas SPR Surface Plasmon Resonance
- WIM Wavelength Interrogation Mode

Sumário

1	INTRODUÇÃO 13
- 11	Contexto 13
1.1	
1.2	
1.5	
1.4	Organização do Documento
2	REFERENCIAL TEÓRICO
2.1	Ressonância de <i>Plasmons</i> de Superfície
2.1.1	Análise dos Dados
2.2	Considerações do Capítulo
3	ΔSPECTOS ΜΕΤΟΠΟΙ ÓGICOS 32
31	Considerações do Capítulo 38
5.1	
4	RESULTADOS
4.1	MobileSPR App
4.1.1	O Fluxo de Execução
4.2	MobileSPR Case
4.3	Testes Experimentais
5	CONCLUSÃO
5.1	Trabalhos Futuros
	REFERÊNCIAS67
	APÊNDICE A – QUESTIONÁRIO DE ESPECIFICAÇÃO DE SOFT-
	<i>WARE</i>
	APÊNDICE B–RESUMO DAS RESPOSTAS DA VALIDAÇÃO DOS ESPECIALISTAS
	APÊNDICE C – CONFIGURAÇÕES DE IMPRESSÃO DA IMPRES- SORA 3D <i>CLIEVER EDUCATIONAL</i> 80

1 Introdução

1.1 Contexto

Sensores ópticos baseados na ressonância de *plasmons* de superfície (SPR, sigla em inglês para *Surface Plasmon Resonance*), são dispositivos utilizados para analisar interações moleculares em meios líquidos e gasosos através da ressonância de *plasmons* de superfície, tipicamente excitáveis por feixes de elétrons. A SPR resulta da interação ressonante dos fótons luminosos com os elétrons livres, presentes em materiais metálicos. Os sensores SPR são amplamente utilizados no campo científico, sendo empregados nas mais diversas aplicações que exigem sensoriamento de substâncias bioquímicas, detecção de agentes patológicos, qualidade de alimentos, descoberta de drogas e qualidade de combustíveis (CHAITRA et al., 2017; HOMOLA, 2008; SIN et al., 2014).

Embora possuam notoriedade científica, existem várias barreiras que impedem o sensoriamento SPR de entrar no mercado de sensores portáteis, como o tamanho, o peso e o consumo de energia dos sistemas de excitação e detecção (WILSON; FERGUSON, 2010). Outras características limitantes nesses sistemas, como a ausência de uma diversidade na possibilidade de uso de métodos distintos de processamento de dados em ferramentas de *software* robustas (CAO et al., 2019), torna perspectiva e possibilita a necessidade do surgimento de novas tecnologias que supram tais *déficits*.

Uma tendência crescente e amplamente utilizada é o uso de plataformas portáteis, como os *smartphones*. A constante presença destes dispositivos em ensaios de biossensores, deve-se à capacidade de computar algoritmos complexos e a presença de componentes físicos resistentes. Essa combinação sólida entre *hardware* e *software* presente nos *smartphones*, torna possível o desenvolvimento de aplicações diversas, que utilizem de seus pequenos e potentes componentes ópticos como também de sua alta capacidade de processamento (WANG et al., 2017).

O avanço dessa tecnologia tornou possível a construção de dispositivos tecnologicamente compactos e poderosos, transformando-os ferramentas acessíveis, de baixo custo integrados com tecnologia de ponta. Entre os fatores positivos encontram-se as câmeras de alta qualidade e os processadores de alto desempenho, que juntos permitem a captura de imagens de alta resolução e a quantificação da intensidade de cor, possibilitando a detecção da concentração de substâncias alvo em ensaios de análises de alterações colorimétricas (JUNG et al., 2015; FREIRE et al., 2019).

Podem ainda serem citados a tela sensível ao toque e o *display* digital, que permitem a interação do usuário com a ferramenta, viabilizando ao usuário a visualização gráfica

dos sinais pré-processados com o auxílio de algoritmos eficazes, garantindo a velocidade e precisão dos resultados (GENG et al., 2017). Além de tornar possível o desenvolvimento e a integração de aplicativos móveis flexíveis de acordo com a necessidade do usuário (DUTTA; SAIKIA; NATH, 2016).

Diante desse contexto, propõe-se com esta pesquisa o desenvolvimento de uma infraestrutura portátil física e lógica, para a experimentação e monitoramento da ocorrência da ressonância de *plasmons* de superfície portátil, voltada para *smartphones*, que possibilite a interação de pesquisadores e ferramenta.

1.2 Objetivos

O objetivo desta pesquisa é desenvolver uma infraestrutura física e lógica para experimentos SPR baseados em *smartphones* utilizando biochips espessos e finos. Assim, são elencados os seguintes objetivos específicos para esta pesquisa:

- 1. Investigar o estado da arte relacionado a sensores e biossensores SPR de baixo custo baseados em *smartphones*;
- 2. Investigar as técnicas para o tratamento de imagens utilizadas em sensores SPR;
- 3. Construir a Estrutura Mecânica para Acoplamento (EMA) óptico do sensor ao *smartphone*;
- 4. Integrar os elementos envolvidos para correta excitação do fenômeno SPR com o *smartphone*;
- 5. Testar e validar o sensor SPR proposto.

1.3 Trabalhos Relacionados

Nesta seção serão apresentados os trabalhos correlatos, os quais abordam a análise de ressonância de *plasmons* de superfície que utilizam totalmente ou parcialmente de *smartphones*.

Em seu trabalho Dutta, Saikia e Nath (2016) propuseram uma plataforma de detecção de ressonância de *plasmons* de superfície Localizada (LSPR) baseada em *smartphone*, que pode detectar a variação de tamanho das nanopartículas de metal e a mudança plasmônica induzida pela bio-conjugação através da detecção de condições de comprimento de onda similares às de um espectrofotômetro comercial.

Na **Figura 1(a)** é apresentado o esquema proposto pelo autor, em que feixes ópticos emitidos por meio de luz branca, são decompostos por meio de uma grade de

difração em comprimentos de onda de 405 nm (laser azul), 533 nm (laser verde) e 655 nm (laser vermelho). Esses feixes atravessam o orifício do pino (obturador óptico de 50 μm), atingem uma lente colimadora convexa plana de 75 mm de espessura, que após serem colimados transpassam um cuvete de quartzo ao qual contém as amostras de teste. O feixe de luz propagado pelo cuvete é focado em um feixe de linha fina por uma lente cilíndrica, guiado até uma grade de transmissão plana anexa à câmera do *smartphone*.

O uso de *softwares* genéricos como o **ImageJ**¹ e o **LearnLight Spectrometry**², disponíveis na *Google Playstore*, fazem possível a análise da resposta espectral dos feixes diretamente no próprio *smartphone*, como exemplificado na **Figura 1(b)**. Para a execução desse trabalho foi inicialmente realizada a sintetização de AuNPs (nanopartículas de ouro) de tamanho diferente e foi estimado o tamanho médio das nanopartículas medindo o desvio espectral nas condições de comprimento de onda LSPR. Em seguida realizaram a bio-conjugação de AuNPs com a proteína bovina BSA (*Bovine serum albumin*) e a enzima tripsina para medir o comprimento onda de absorção de pico que depende da concentração das biomoléculas anexadas. Porém, os *softwares* utilizados não possuem as funcionalidades exigidas para extração e exibição de resposta SPR, como a escolha de novos parâmetros, suavização e configuração de métodos para captura de dados que são exibidos na curva.

No trabalho de Guner et al. (2017) foi desenvolvido biossensor de ressonância de plasmons de superfície de imagem de baixo custo baseado em smartphones. Nesse trabalho, um LED - *light-emitting diode* foi utilizado para emitir um feixe de luz de cor verde em um cabo de fibra óptica, seguido de um colimador, um filtro de passa-banda atrelado a um polarizador linear. Como ilustrado na Figura 2(a), após passar por esses dispositivos o feixe de luz era incidido na superfície do biossensor baseado em grade, construído de placa de Blu-ray. Além de uma Estrutura Mecânica para Acoplamento (EMA) projetada e impressa em uma impressora 3D, foi desenvolvido um software para dispositivos de sistema Android, que realiza a análise das imagens e estima a concentração de analíto no uso em campo. No aplicativo é possível escolher a região de interesse a qual se quer observar as variações de intensidade. Também é possível em armazenar os valores de intensidade de referência, linha de base e no escuro. O aplicativo pode ser visto na Figura 2(b). O biossensor foi coberto com uma dupla camada, sendo um revestimento de prata com espessura acima de 80 nm na parte inferior, atuando como uma camada de excitação de plásmons, e no topo um filme de ouro fino de espessura inferior a 10 nm, atuando como uma superfície para a modificação de superfície subsequente, como também para estender a vida útil do sensor. O fluido é trasportado através de um canal existente dentro de uma placa acrílica transparente de formato trapezoidal de produção caseira, até a superfície do biossensor. O anticorpo IgG foi utilizado como exemplificação experimental. Neste teste, o sistema desenvolvido conseguiu detectar a concentração nanomolar do analito dentro de

¹ Disponível em: <https://imagej.nih.gov/ij/index.html>

² Disponível em: <htps://www.apkfollow.com/app/learnlight-spectrometry/com.flappit.learnlight/>



Figura 1 – Imagem do sensor LSPR - SPR localizado

(a) Diagrama de blocos do sensor LSPR. Elementos indicados na figura



(b) Fotografia do $\mathit{set-up}$ experimental proposto com o $\mathit{smartphone}$ inserido na estrutura.

Fonte: Adaptado de Dutta, Saikia e Nath (2016).

uma faixa dinâmica de alguns nanomolares.

Para medir o desempenho do sensor, o autor utilizou de simulações numéricas. Constatando que a sensibilidade do índice de refracção do volume espectral, é calculada como 316 nm/RIU, valor condizente com os encontrados na literatura, como pode ser visto em Oliveira et al. (2019).

No trabalho de Liu et al. (2015) foi desenvolvido um biossensor SPR baseado em *smartphones* projetado em estrutura de fibra óptica. Os componentes ópticos necessários foram fixados a uma capa anexada ao telefone, de forma a tornar a estrutura leve, pequena e adaptável. Para a emissão de feixes luminosos foi utilizado o *flash* do próprio dispositivo, de modo que os feixes refletiam pelo interior de canais de fibra até a chegada na câmera do dispositivo. Na **Figura 3** pode ser observado a organização dos 3 canais de fibra, onde o canal de referência (RC) conduz a luz tal qual é emitida pelo flash do aparelho e os canais de controle (CC) e medição (MC) captam o comportamento da luz após a passagem pela célula de fluxo.



Figura 2 – Imagem do sensor Sensor SPRi.

(a) Visão completa da arquitetura do projeto do sensor SPRi



(b) Foto do aplicativo exibindo os resultados obtidos pelo sensor SPRi Fonte: Adaptado de Guner et al. (2017)

A Figura 4 ilustra a célula de fluxo projetada, na qual foi necessário remover a proteção capilar de sílica de uma pequena parte da fibra e acoplar duas lâminas de 50 nm de ouro a ela. Essa parte é totalmente coberta pela célula de fluxo, contendo apenas os canais de entrada e de saída dos fluidos. Quando a amostra é injetada na célula de fluxo, a luz que interage com a região sensora é absorvida por causa da ressonância SPR, e a câmera do telefone mede uma mudança de intensidade correspondente da luz que sai da fibra de saída. Desta forma o sistema atua com base no modo de interrogação de intensidade, do inglês *intensity mode* (IM). Um aplicativo para dispositivos Android foi desenvolvido para analisar a saída do sensor. O aplicativo extrai as informações das imagens capturadas pela câmera em uma frequência de aproximadamente 2 Hz para cada canal e calcula as alterações de intensidade para eles. Para tornar possível a extração das informações de brilho dos dados da imagem pelo aplicativo, a imagem que é colorida foi convertida em escala de cinza. Desta forma colocando cada ponto da imagem em um valor de escala de cinza, variante entre 0% (branco) e 100% (preto) para indicar seu brilho.



Figura 3 – Esquema do sensor SPR com estrutura de fibra óptica baseado em smartphone.

Fonte: Adaptado de Liu et al. (2015).

Portanto, a intensidade da luz de uma fotografia pode ser calculada integrando o valor da escala de cinza dos pontos de medição e referência.



Figura 4 – Célula de fluxo do sensor SPR de fibra óptica.

Fonte: Adaptado de Liu et al. (2015).

Para a validação do trabalho foram utilizadas as proteínas IgG e BSA. Os resultados obtidos com essa ferramenta foram satisfatórios quando comparados com sensores convencionais. O autor relata que o biossensor para *smartphones* trouxe medidas de RI superiores a detecção biológica de IgG utilizando um instrumento comercial SPR (*Biosuplar 6, Analytical µ-Systems*, Alemanha). Contudo, observou-se que o *softwares* desenvolvido poderia ter algumas outras funcionalidades, tais como: possibilitar ao utilizador a visualização dos parâmetros utilizados para exibição gráfica e escolher métodos distintos para o tratamento das imagens.

Semelhante à abordagem anterior, em Liu et al. (2018) foi desenvolvido um biossensor SPR de baixo custo de duas camadas baseado em *smartphones*. Para estimular a excitação do fenômeno SPR os autores utilizaram uma estrutura de fibra óptica iluminada por uma lâmpada de halogênio (HL-2000-FHSA, Ocean Optics, Inc.), a qual alterava os índices de refração (IR) do biossensor, por meio da alternância de comprimento de onda que podia atingir os valores de 1839 nanômetros (nm). A arquitetura pode ser observada na **Figura 5**.





Fonte: Adaptado de Liu et al. (2018).

Ao monitorar as respostas da variação do comprimento de onda, os autores observaram que para comprimentos de onda diferentes ocorria também a variação da intensidade da luz, de forma que para comprimentos mais curtos ela aumenta e que para comprimentos de onda mais longos diminuía. Esse experimento foi realizado em média 3 vezes para cada comprimento de onda distinto.

No seu modelo foi desenvolvido um sistema para plataforma Android que monitora em tempo real os dados dos canais verde e vermelho, capturados em imagens de tamanho 640 x 480 pixel. Para comprovar a viabilidade do trabalho, Liu et al. (2018) utilizou da proteína A e IgG de coelho, utilizando o sensor SPR modificado por proteína A para a detecção da concentração de IgG. Assim, ele identificou que os resultados indicavam que o sensor SPR de duas cores é eficaz para aplicações de biossensores. O sistema calcula os valores de intensidade de cada canal e os exibe em tempo real. De acordo com o autor, um dos fatores que viabilizaram o trabalho foi o uso da câmera do smartphone, que captura SPR dos canais vermelho e verde possibilitando a análise em tempo real, além de tornar o biossensor simples e portável. Esses fatores agregam condições fundamentais para o trabalho. O uso do smartphone possibilita a locomoção do biossensor de forma prática, contudo, a dependência de um dispositivo a parte, como um computador desktop, para a análise e exibição dos resultados limita a portabilidade e praticidade de experimentos.

Filho, Lima e Neff (2014) propuseram o desenvolvido de um suporte físico que possibilita a implementação e combinação de um *chip* difrativo polimérico com um smartphone, de forma a atuar como um bio-chip portátil, sem a necessidade de qualquer dispositivo óptico adicional, exceto o próprio SPR-chip. Como visto na Figura 6, a estrutura foi projetada especificamente para ser utilizado no Samsung Galaxy SIII, e foi impressa em ABS - Acrylonitrile butadiene styrene, material utilizado em impressoras 3D. O sistema utiliza a própria luz da tela do *smartphone* para provocar a excitação do fenômeno SPR. A luz emitida passava por um filme fino polarizador, passando pelo Diffractive Optical Coupling Element (DOCE), até chegar a câmera do dispositivo. A possibilidade de medir soluções inorgânicas e adsorção de proteínas foi demonstrada com a solução proposta. Assim, observou-se a possibilidade de estimação do deslocamento angular usando os valores obtidos nos canais vermelho, verde e azul, tendo os maiores valores obtidos no canal verde. Foi desenvolvido um aplicativo para o sistema operacional Android, o qual realiza as análises das imagens capturadas pela câmera do dispositivo. Embora este trabalho apresente a utilização do smartphone como meio de promover a portabilidade do biossensor, tem como limitação o suporte construído para o acoplamento do dispositivo, já que este foi projetado pensando em um único modelo de aparelho celular. Do mesmo modo, foi encontrado neste trabalho que os recursos do dispositivo não foram aproveitados de forma a maximizar seu potencial, já que na Figura 6 é demonstrado que os gráficos são exibidos em uma ferramenta utilizada no notebook.



Figura 6 – Estrutura completa do biossensor e suporte.

Fonte: Adaptado de Filho, Lima e Neff (2014).

Em Preechaburana et al. (2012) o fenômeno SPR foi analisado com o auxílio dos recursos de desempenho e compatibilidade fornecidos pelos telefones celulares. O sistema desenvolvido adere a tecnologia LOC - *lab-on-chip*, que permite a realização de análises laboratoriais em um único chip, nesse caso direcionado para telefones celulares. A proposta é que após a realização do experimento o dispositivo possa ser descartado sem maiores problemas, como também sem maleficio algum para o *smartphone*.

O biochip projetado é aderido à superfície do telefone, onde a luz exibida em um

quadrado de cor vermelha e emitida pela tela do dispositivo é configurada para excitar um plasmon na superfície de um fino filme de metal. As telas dos smartphones proporcionam naturalmente a iluminação de grande ângulo necessária para configurar experiências SPR com resolução de ângulo. O acoplador é descartável produzido de *polidimetilsiloxano* (PDMS), borracha e epóxi com índice de refração equivalente ao do vidro (EPO-TEK301-1, n = 1.5). O processo de excitação SPR pelo biossensor pode ser visualizado na **Figura 7(a)**.

A superfície do polímero é revestida com uma camada de ouro de 45 nm fixada por evaporação térmica. A base PDMS da estrutura adere suavemente à tela do telefone, assim proporcionando o acoplamento óptico e mecânico adequado, possibilitando a remoção sem danos ao dispositivo telefônico. A **Figura 7(b)** representa o esquema 3D da integração dp biossensor SPR com resolução de ângulo fazendo uso da iluminação do *display* para emissão da luz e da câmera frontal do dispositivo para a captura das imagens.





(b) Visão da integração do biossensor Fonte: Adaptado de Preechaburana et al. (2012).

Como apresentado nesta **Seção**, alguns trabalhos existentes na literatura abordam a construção de biossensores SPR voltados para o uso em *smartphone*. Esses trabalhos apresentaram sensores com estruturas distintas, como acoplados, que permitem a inserção de *smartphones* distintos para o uso do sensor, como fixa, à qual não possui a mesma flexibilidade de uso em *smartphones* variados. Nestes, também foram apresentados configurações e modo de operação distintos, possuindo configuração de grade, fibra-óptica e prisma, e modo de operação de variação angular, de comprimento de onda e de intensidade. Um resumo dos trabalhos e seus recursos abordados é apresentado na **Tabela 1**.

Trabalho	Estrutura	Configuração SPR	Modo de Operação	Recursos	Versatilidade	Funcionalidades
(DUTTA; SAI- KIA; NATH, 2016)	Acoplada	Cubeta	LSPR - WIM	Câmera	Iphone 4; Dis- positivos com 115,2 x 58,6 mm e câmera a esquerda	Captura e preprocessa imagens
(GUNER et al., 2017)	Fixa	Placa de acrí- lico anexa em grade trapezoi- dal de disco de Blu-ray	SPRi - IM	Câmera; Display	Sansumg I8552 Galaxy Win	Captura imagens, analisa a concentração do analito por mudança de índices de refra- ção e armazena os dados
(FILHO; LIMA; NEFF, 2014)	Acoplada	Diffractive Optical Cou- pling Element (DOCE); Con- figuração de Kretschmann	SPR - AIM	Câmera; Display	Sansumg Ga- laxy SIII	Captura imagens e transmite-as para um dispositivo externo
(LIU et al., 2015)	Acoplada	Fibra Óptica	SPR - IM	Câmera; Display	Não mencio- nado no traba- lho	Captura imagens e monitora os sinais de 2 canais simulta- neamente
(LIU et al., 2018)	Acoplada	Fibra Óptica	SPR - IM	Câmera; Display	Não mencio- nado no traba- lho	Captura imagens e monitora os sinais de 2 canais simulta- neamente
(PREECHABURANA et al., 2012)	A Acoplada	Prisma	SPR - AIM	Câmera; <i>Display</i>	Quaisquer smartphones	Captura imagens e monitora os canais de saída de cor verde e vermelho, possibilita a calibragem da dosagem da substância, permite o moni- toramento dos canais de re- ferência
Trabalho pro- posto	Acoplada	Prisma	SPR - AIM/WIM	Câmera; <i>Display</i> , Processa- mento do disposi- tivo,	Quaisquer smartphones	Captura de imagens, pro- cessamento de imagens, pré- configuração de parâmetros do sistema de análise, plota- gem dos sinais de linha de base SPR e escolha dos ca- nais de exibição (RGB), exi- bição de sensogramas (valor mínimo, largura e assimetria da onda), escolha dos méto- dos de suavização de sinal e de captura de mínimo. Sepa- rarados em 2 modos (view mode e advanced mode

Tabela 1 – Sensores SPR base ados em smartphones

Fonte: Autoria própria (2019).

1.4 Organização do Documento

Este trabalho está estruturado da seguinte forma: no Capitulo 2, são apresentados os conceitos teóricos necessários para o desenvolvimento da pesquisa; no Capítulo 3, está

descrita a proposta do sensor SPR; no Capítulo 4 são discutidos os resultados; e no Capítulo 5 é apresentado a conclusão desta pesquisa.

2 Referencial Teórico

Este capítulo apresenta os conceitos e terminologias utilizadas neste trabalho. Primeiramente são apresentados conceitos gerais da Ressonância de *Plasmons* de Superfície, finalizando com a abordagem dos conceitos matemáticos da análise multicamada de Fresnel, essenciais para o entendimento do trabalho.

2.1 Ressonância de Plasmons de Superfície

A Ressonância de *Plasmons* de Superfície, do inglês *Surface Plasmons Ressonance* (SPR), é um fenômeno físico, resultante de interações ressonantes de elétrons livres, presentes em uma superfície metal/dielétrica, e fótons incidentes advindos de uma fonte luminosa, resultando em um acoplamento óptico angular ou espectral (OLIVEIRA et al., 2019; MONTEIRO; MUKHERJI; KUNDU, 2013).

De acordo com Monteiro, Mukherji e Kundu (2013) os sistemas de análise SPR mais comuns são constituídos de estruturas que incorporam acopladores de prisma, acopladores de grade e acopladores de guia de ondas. Na literatura existem alguns trabalhos que utilizam dessas arquiteturas, propondo dispor a visualização desse e de outros fenômenos físicos ressonantes.

A excitação da SPR é comumente realizada com uso de prismas, baseados nos métodos propostos por Kretschmann e Raether (1968) e Otto (1968). Ambos os trabalhos propõem a excitação do fenômeno SPR por meio de acoplamento de prisma e o método de reflexão total atenuada, do inglês *attenuated total reflection* (ATR) (HOMOLA; PILIARIK, 2006).

A estrutura proposta por Kretschmann, é compreendida por uma combinação de múltiplas camadas. Essa estrutura é composta tipicamente por uma camada de um filme de metal fino, disposta entre duas camadas diferentes ou idênticas, formadas de algum material dielétrico de transmissão óptica. Em aplicações de sensores ópticos, uma das camadas obrigatoriamente é composta por um líquido polar (que apresenta regiões eletronicamente densas), ou não polar, sendo esta substância comumente chamada de analíto. O fenômeno SPR tem por característica a alta sensibilidade em medir o índice de refração do analíto, presente sobre a superfície metálica (região sensível) (OLIVEIRA et al., 2019; BIJALWAN; RASTOGI, 2017).

Quando um feixe luminoso é incidido na superfície do prisma de alto índice de refração, se propagando pelo filme metálico, parte da luz é refletida de volta para o prisma e a outra parte absorvida pelo metal na forma de uma onda eletromagnética não homogênea. Esta onda decai exponencialmente na direção perpendicular à interface prisma-metal e é referida como uma onda evanescente (HOMOLA; PILIARIK, 2006). A estrutura de Kretschmann pode ser observado na **Figura 8**.

Figura 8 – Estrutura do sensor óptico multicamada SPR baseado em prisma proposto por Kretschmann e Raether (1968).



Fonte: Autoria própria (2019).

Em sua abordagem, Otto (1968) propôs um experimento em que é incidido um feixe transversal magnético, com comprimento de onda variável, sobre a superfície de um prisma acoplado a duas placas de quartzo espaçadas entre si, com folhas metálicas de prata fixadas sua superfície.

Quando a luz percorre do meio com índice de refração mais alto ε_{mr} , para o meio com índice de refração mais baixo ε_{an} , a reflexão interna total pode ocorrer dentro do meio interno, desde que o ângulo de incidência, θ , seja maior que o ângulo crítico, de forma que: $\sin(\theta c) = \varepsilon_{an}/\varepsilon_{mr}$.

No caso da espessura das camadas de cada meio estejam nas medidas aceitáveis, a oscilação dos elétrons-livres (plamons), k_{spp} acoplam-se ao vetor de onda dos fótons da fonte de luz incidente k_{ph} . Para isso a constante de propagação da onda evanescente da superfície plasmônica e a permissividade elétrica do metal devem ser aproximadas (HOMOLA; PILIARIK, 2006; TANG; ZENG; LIANG, 2010), ou seja:

$$k_{spp}(\lambda) = \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{\frac{\varepsilon_{an}(\lambda)\varepsilon_{mr}(\lambda)}{\varepsilon_{an}(\lambda) + \varepsilon_{mr}(\lambda)}}$$
(2.1)

deve ser igual à

$$k_{ph} = \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{n_{MAT} \sin\left(\theta\right)} \tag{2.2}$$

em que a Equação (2.1) representa uma aproximação da oscilação dos plasmons de superfície, em que $\frac{2\pi}{\lambda}$ representa o vetor de onda de fótons para propagação no vácuo, λ comprimento de onda da luz, ε_{mr} corresponde a permissividade elétrica do metal e ε_{an} é a permissividade elétrica da camada dielétrica. Já na Equação (2.2), n_{MAT} representa o índice de refração do biochip, com um feixe luminoso incidido à um ângulo θ .

O feixe de luz incidente sofre múltiplas reflexões até atingir todas as camadas, sendo todas essenciais para a realização do cálculo de reflexão total (OLIVEIRA et al., 2019). A propagação de uma onda do meio j para o meio j+1 resulta em uma matriz, representada por:

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

Assumindo que q_j , o valor de admitância e β_j o deslocamento de fase da camada, são representados respectivamente por:

$$q_j = \frac{\sqrt{n_j^2(\lambda) - (n_{MAT}(\lambda)\sin(\theta_1))^2}}{n_j^2(\lambda)}$$
(2.4)

$$\beta_j = \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{n_j^2 - (n_{MAT}(\lambda)\sin(\theta_1))^2}$$
(2.5)

Onde $n \cong \sqrt{\epsilon}$. Desta forma, ao final do calculo de cada matriz individual de M_j , obtém-se a matriz de transferência total, M_{tot} , que é descrita como:

$$M_{tot} = \prod_{j=2}^{m-1} \begin{bmatrix} m_{11} & m_{12} \\ m_{21} & m_{22} \end{bmatrix}$$
(2.6)

Assim, podem ser encontrados os valores referentes aos coeficientes de refletividade (R), e os coeficientes de transmissão (T), descritos como os coeficientes de Fresnel de estruturas multicamadas. A análise multicamada Fresnel em sua forma matricial, é uma ferramenta essencial para o estudo das propriedades ópticas dos sistemas de camada, como no sistema da SPR. As equações matemáticas de Fresnel se tornam essenciais para a otimização dos parâmetros ópticos que afetam o desempenho do SPR (Zhaoxin Geng et al., 2009; OLIVEIRA et al., 2019). As formulações referentes a R e a T, são apresentadas nas equações a seguir:

$$R = \frac{(m_{11} + m_{12}q_m)q_1 - (m_{21} + m_{22})q_m}{(m_{11} + m_{12}q_m)q_1 + (m_{21} + m_{22})q_m}$$
(2.7)

$$T = \frac{2q_m}{(m_{11} + m_{12}q_m)q_1 + (m_{21} + m_{22})q_m}$$
(2.8)

Após a ocorrência do fenômeno, junto a análise de Fresnel é possível realizar a representação gráfica dos valores obtidos de R. No gráfico são exibidos os valores de refletividade da estrutura multicamada, oriundos relação dos valores de referência com os valores obtidos após a excitação da SPR. Para os valores de referência, são geralmente utilizados os índices de refletividade do material na presença do ar, denominados de Dry Cell, já para os analitos o termo utilizado é Wet Cell. A resposta SPR é calculada como: $SPR = \frac{Wet \ Cell}{Dry \ Cell}$. Como pode ser visto na **Figura 9**, o gráfico obtido por meio da analise de Fresnel, possui os valores $\lambda_{res1} \in \lambda_{res2}$, para experimentos com variação angular. Esse deslocamento representado na curva pode ser analisado e interpretado, em que o valor mínimo de refletividade obtido define a condição de ressonância.





Fonte: Adaptado de Oliveira et al. (2019).

A SPR pode ser observada por dois modos distintos: por meio da interrogação angular (*Angular Interrogation Mode* - AIM), onde o dispositivo de captura de imagem detecta o ângulo monocromático refletido; ou pelo método de interrogação de comprimento de onda (*Wavelength Interrogation Mode* - WIM), onde um espectrômetro detecta os feixes de luz de comprimento de onda multicor refletido (MOREIRA et al., 2009).

2.1.1 Análise dos Dados

Para otimizar os experimentos e realizar análises satisfatórias, faz-se necessária a extração dos valores mínimos de refletividade das substâncias analisadas. Tais parâmetros são considerados os mais importantes entre os demais, nas respostas SPR, pois definem a condição de ressonância que é de fato a posição da refletividade mínima (PEREIRA et al., 2014). Para isso, alguns algoritmos podem ser utilizados, como *minimun hunter*, linha de

base dinâmica, interpolação polinomial e centroide (THIRSTRUP; ZONG, 2005; ZHAN; WANG; LIU, 2010; WANG et al., 2011).

Algorítmos para a Determinação de Mínimos Aproximados

Os valores obtidos na curva SPR podem ser representadas por um polinômio de grau n. Para realizar a análise dos valores da curva podem ser utilizados métodos de interpolação polinomial. De acordo com RUGGIERO e LOPES (1996), interpolar uma função f(x) consiste em aproximá-la de uma outra função g(x), tal que:

$$\begin{cases} g(x_0) &= f(x_0) \\ g(x_1) &= f(x_1) \\ g(x_2) &= f(x_2) \\ \vdots &\vdots \\ g(x_n) &= f(x_n) \end{cases}$$
(2.9)

Dados um conjunto de pontos, $(x_0, f(x_0)), (x_1, f(x_1)), ..., (x_n, f(x_n))$, portanto (n+1) pontos, é possível aproximar a função f(x) por um polinômio $P_n(X)$, com grau menor ou igual a n, tal que:

$$f(x_k) = P_n(x_k) \quad k = 0, 1, 2, 3, ..., n$$
(2.10)

Desta forma, para aproximar uma função f(x) de grau n, obtém-se o seguinte polinômio:

$$P_n(x) = a_0 + a_1 x + a_2 x^2 + \dots + a_n x^n$$
(2.11)

Obter um polinômio P_n significa encontrar os coeficientes $a_0, a_1, ..., a_n$. Ao final pode ser construído um sistema com (n + 1) equações e (n + 1) variáveis, como pode ser visto abaixo na **Equação (2.12)**.

$$\begin{cases} a_0 + a_1 x_0 + a_2 x_0^2 + \dots + a_n x_0^n = f(x_0) \\ a_0 + a_1 x_1 + a_2 x_1^2 + \dots + a_n x_1^n = f(x_1) \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ a_0 + a_1 x_n + a_2 x_n^2 + \dots + a_n x_n^n = f(x_n) \end{cases}$$
(2.12)

Após obter uma fórmula geral que representa o polinômio, o valor de ressonância pode ser encontrado por meio da aplicação da primeira derivada da função, como indicado na Equação (2.13) (OLIVEIRA et al., 2019).

$$\frac{\mathrm{d}}{\mathrm{d}\theta} = P(\theta)_{\theta=\theta_0} ou \frac{\mathrm{d}}{\mathrm{d}\lambda} = P(\lambda)_{\lambda=\lambda_0}$$
(2.13)

A medida referente a ressonância também pode ser encontrada pelo valor do centroide (C) da curva. Para encontrar o valor do centro pode ser aplicado um limite predefinido ou dinamicamente conhecido como linha de base (L_B) . Para uma curva com N pontos, o valor do centroide é calculado para os pontos (p_k) com valores de intensidade abaixo da linha de base, de acordo com a **Equação (2.14)**.

$$C(t) = \frac{\sum_{k=1}^{N} (p_k(t) - L_B)k}{\sum_{k=1}^{N} (p_k(t) - L_B)}$$
(2.14)

A evolução temporal dos valores do gráfico, obtidos por meio da mudança das substâncias depositadas na célula de fluxo, acarreta na mudança da SPR, e consequentemente no valor mínimo da curva. Esses valores mínimos são visualizados no gráfico denominado sensograma, onde a mudança da SPR pode indicar um deslocamento (positivo ou negativo) no sensorgrama. A **Figura 10** representa o sensogramad de uma receita experimental envolvendo H_2O , BSA e Hipoclorito de sódio, em uma receita experimental de adsorção e dissociação.





Fonte: Adaptado de Oliveira et al. (2019).

Algoritmos de Suavização

Para auxiliar na visualização da excitação do fenômeno SPR, são utilizadas, geralmente, filtros de suavização de imagens e de suas respectivas curvas SPR. Entre os mais utilizados estão os filtros de média e mediana. Esses filtros são utilizados para atenuar ruídos, oriundos do processo de captura dos dados e muitas vezes gerados por interferência luminosa durante a execução experimental. Neste trabalho serão apresentados dois, o filtro passa-baixa de média e o filtro de mediana.

Os filtros denominados de passa baixa buscam reduzir componentes presentes de alta frequência de uma imagem/sinal à manter os componentes de baixa frequência, atenuando as regiões de bordas e detalhes da imagem, como ruídos, que correspondem aos componentes de alta frequência (MENESES; ALMEIDA et al., 2012). Ao se utilizar um filtro passa-baixa de média, reduz-se a variabilidade dos níveis de cinza da imagem (e dos valores da curva SPR) e suaviza o seu contraste.

Neste filtro, o algoritmo percorre todos os pixeis de uma imagem, onde em cada passo ele verifica se o valor do pixel é maior que os demais vizinhos. Desta forma os valores dos pixeis vizinhos que são maiores que o atual, são reduzidos. Este filtro pode ser expresso matematicamente através da seguinte fórmula:

$$g(i,j) = \frac{1}{MN} \sum_{m=1}^{M} \sum_{n=1}^{N} f(m,n)$$
(2.15)

Uma outra forma de atenuar os ruídos, oriundos muitas vezes de interferências externas ao sinal, é a utilização do filtro de mediana (MENESES; ALMEIDA et al., 2012). Este método é não-linear e apresenta desempenho bom em situações nas quais o sinal possui bastante ruído.

O valor mediano (m) de um conjunto de n pixeis vizinhos ordenados, é o valor que metade dos n elementos do conjunto situem-se abaixo de m e a outra metade acima de m, em casos de m ser ímpar, o valor mediano é o próprio elemento central do conjunto ordenado. Já em casos em que n é par, a mediana pode ser calculada pela média aritmética dos dois elementos mais próximos do valor central. A **Figura 11** demonstra o estudo realizado por de Sousa et al. (2014), no qual foram aplicados métodos distintos de suavização nos sinais obtidos.

Figura 11 – Comparativo do sinal com diferentes aplicações de filtros. a) dados sem filtros, b) média temporal, c) mediana espacial e d) filtro passa-baixa



2.2 Considerações do Capítulo

Neste capítulo foram apresentados os conceitos fundamentais para construção e entendimento dos principais assuntos abordados neste estudo. Primeiramente foram introduzidos os conceitos que englobam a Ressonância de *Plasmons* de Superfície, os métodos de excitação do fenômeno e as condições físicas necessárias para o acontecimento do fenômeno. Em seguida foram elencadas as etapas que se sucedem durante desde excitação do fenômeno e os princípios técnicos dos algoritmos necessários para o tratamento e exibição dos dados em gráficos, até a extração dos valores mínimos de cada curva para inserção no sensograma. Foram definidos os algoritmos de média móvel e mediana como técnicas a serem utilizadas no tratamento dos dados obtidos pelo sensor óptico e exibidos posteriormente nos gráficos.

3 Aspectos Metodológicos

Neste capítulo serão apresentados os aspectos metodológicos para o desenvolvimento da infraestrutura lógica e física, portátil, projetada para uso de biochips espessos e finos em *smartphones*, juntamente da modelagem da arquitetura de funcionamento da aplicação, a organização da arquitetura e a integração da Estrutura Mecânicapara Acoplamento - EMA, denominada **MobileSPR Case**, com o **MobileSPR App**.

Para alcançar os objetivos almejados, a metodologia de pesquisa segue um conjunto determinado de 4 fases, em que cada uma dessas fases é constituída de um conjunto de atividades, tendo como marco final a entrega de um ou mais artefatos. Na **Figura 12** é apresentado o fluxo de fases, processos e subprocessos desenvolvidos neste trabalho.



Figura 12 – Fluxo da metodologia do trabalho.

Fonte: Autoria própria (2019).

Fase 1 - Construção do MobileSPR App

A **Fase 1** é composta por 2 subprocessos, a Especificação de *software* e a Implementação e Testes. Nesta fase o objetivo é obter ao final um protótipo do **MobileSPR App**.

Especificação do MobileSPR App

Neste processo foram determinados o conjunto de requisitos funcionais e não funcionais do sistema, determinando as prioridades de implementação. Com os requisitos funcionais é detalhado o funcionamento do sistema, suas entradas, saídas e exceções, e em geral variam de acordo com o *software* a ser desenvolvido. Enquanto os requisitos não funcionais são relacionados às propriedades emergentes, como confiabilidade e tempo de resposta (SOMMERVILLE, 2011).

Para isso foram aplicadas algumas técnicas, como questionários abertos e fechados, brainstorming e prototipagem de alta e baixa fidelidade. Essas técnicas foram aplicadas juntamente à pesquisadores e especialistas da área. A aplicação dos questionários possibilitou identificar as principais funcionalidades a serem implementadas no sistema, como os métodos de suavização e de busca de valor mínimo, além da definição de aspectos de *design*. O questionário e as respostas dos especialistas podem ser visualizados no **Apêndice A** e no **Apêndice B**.

Com o *feedback* da aplicação dos protótipos junto aos especialistas, notou-se que as necessidades funcionais do aplicativo seriam: capturar os dados referentes a célula de fluxo vazia, relacionar os dados da presença das substâncias com os da célula de fluxo vazia, possibilitar ao usuário a escolha de métodos específicos para o tratamento desses dados, permitir ao usuário a escolha de métodos de seleção de valor mínimo da curva SPR obtida, possibilitar ao usuário a configuração de parâmetros nos métodos escolhidos, exibir os dados graficamente, permitir também a visualização gráfica de um sensograma e dispor ao usuário a opção de armazenar todos os dados no próprio dispositivo.

Implementação e Testes

Foi desenvolvido um protótipo evolutivo do **MobileSPR App**, utilizando de tecnologias híbridas de desenvolvimento, como *JavaScript, HTML* e *CSS*. Essas linguagens, foram utilizadas juntamente de *frameworks* como o *Angular JS*, um *framework* de código aberto que possibilita o desenvolvimento de aplicações web e *mobile* de forma híbrida. Mesmo a abordagem de desenvolvimento nativa sendo mais eficiente do que a híbrida, a nativa se torna inviável quando se necessita utilizar de versionamento, pois o versionamento de aplicações para plataformas distintas causa um maior impacto em custo e tempo de desenvolvimento, além de tornar inviável a evolução de *softwares* em várias aplicações

simultaneamente (MONTAN; PINTO, 2018). Durante o desenvolvimento dos protótipos, foram depuradas versões do aplicativo e executadas inúmeras vezes em *smartphones* com o sistema operacional *Android*, em busca de averiguar e identificar possíveis gargalos oriundos do processo de desenvolvimento. A versão para IOS só foi possível ser gerada de forma visual e emulada por meio do navegador de internet, *Google Chrome*, que possibilita a depuração de aplicativos desenvolvidos por meio de tecnologias Web/Mobile.

Durante o desenvolvimento foram aplicados testes unitários, com o objetivo de avaliar individualmente o funcionamento de cada funcionalidade, e em seguida os testes de integração de *software*, de modo a verificar também o funcionamento do sistema como um todo. Esses testes foram aplicados no próprio ambiente de desenvolvimento, do inglês *Integrated Development Environment* (IDE), Visual Studio Code. Os testes unitários auxiliam na avaliação das funcionalidades do sistema durante o desenvolvimento, enquanto o teste de integração é uma técnica sistemática que auxilia a arquitetura do sistema com base nos testes unitários, ao mesmo tempo que possibilita a verificação de possíveis erros de integração de interface e sistema (PRESSMAN; MAXIM, 2012). Ao final desta etapa, o *software* desenvolvido será submetido ao processo de registro de *software*.

Fase 2 - Construção do MobileSPR Case

Em sequência é dado início a **Fase 2**, que aborda o projeto e construção da estrutura física para acoplamento, denominada de *MobileSPR Case*. Essa fase possui duas atividades principais, a Especificação Física e a Impressão 3D.

Especificação do MobileSPR Case

Inicialmente foi realizado em material bibliográfico um levantamento dos requisitos necessários para a análise do fenômeno SPR, desde características gerais dos dispositivos, como posicionamento da câmera, espessura e o tipo de iluminação dos *displays*. Desse modo, foi realizado um estudo sobre os padrões de *layouts* dos *smartphones*, para possibilitar um alinhamento do projeto com as tendências dos dispositivos móveis, de forma a garantir uma longevidade para o artefato final.

No estudo realizado, foram elencados os principais modelos de *smartphones* dos últimos dois anos, de acordo com a quantidade de unidades vendidas. Com o intuito de diminuir a quantidade de informações repetidas, derivadas da inúmera quantidade de variações de modelos, apenas um modelo de cada fabricante foi selecionado. Dessa forma foram extraídas informações relevantes, tais como as dimensões do dispositivo (altura, largura e espessura) e a qualidade e disposição do sensor de captura de imagens.

Como resultado, a **Tabela 2** sumarizada as principais informações necessárias para o projeto do MobileSPR Case. No estudo realizado, foram elencados no ano de 2018

35

dispositivos como o Iphone XR da Apple, o Galaxy S9/S9+ da Samsung e Huawai Mate 20/20 pro da própria Huawai. Dentre esses dispositivos é possível identificar que algumas características são bastante similares, mesmo sendo fabricados por empresas distintas. Dessas características pode ser citada as dimensões médias de 152.27 mm de altura, 73.9 mm de largura e 8.5 mm de espessura, tendo divergente apenas o posicionamento do sensor de captura, apresentado por vezes na direita como também no centro do dispositivo. No ano de 2019 algumas pequenas mudanças ocorreram, a iniciar pelo destaque da empresa chinesa Xiaomi, estando presente entre as três que se destacaram no setor de vendas de *smartphones*. Os aparelhos mais vendidos nesse ano foram o Iphone 11 da Apple, o Galaxy A10 da Samsung e o Redmi Note 7/7 Pro da Xiaomi. Esses aparelhos apresentam dimensões médias um pouco destoantes do ano anterior, como 155.23 mm de altura, 75.57 mm de largura e 8.17 mm de espessura. Diferença de aproximadamente 2.96 x 1.67 x -0.33 mm em suas dimensões totais. Os sensores de captura também apresentaram as mesmas variações de posicionamento, sendo à direita e ao centro. Os dados supracitados auxiliaram na definição de uma estrutura física adaptável para dar suporte as distintas configurações dos modelos de *smartphones*. Dessa forma, é possível realizar estudos experimentais futuros em uma diversidade maior de dispositivos, tornando-a uma ferramenta flexível aos futuros modelos expostos no mercado, sofrendo o mínimo de impacto possível devido a essas variações. Vale ressaltar, que os *smartphones* elencados abordam a tecnologia de *displays* infinitos, que maximizam o uso das telas, reduzindo ao máximo o tamanho das bordas do sensor de captura.

Ano	Madala	N ^o Vendas	Dimensões	Câmera	Posição
Ano	Modelo	(Mi)	(mm)	Frontal	da Câmera
	Apple Iphone XR	64,9	150,9 x 75,7 x 8,3	$7 { m Mp}$	Direita
2018	Sameung Calavy		$147,7/158,1 \mathrm{~x}$		
	Samsung Galaxy	35,4	$68,7/73,8 { m ~x}$	$8 { m Mp}$	Direita
	760/59		8,5		
	Huawai Mato		$158,2/157,8 \ {\rm x}$		
	20/20 Dro	17	$72,2/72,3 \mathrm{~x}$	$24 { m Mp}$	Centro
	20/20110		8,3/8,6		
	Apple Iphone 11	37,3	150,9 x 75,7 x 8,3	12 Mp	Direita
2019	Samsung Galaxy A10	30,3	155,6 x 75,8 x 8,1	$5 { m Mp}$	Centro
	Xiaomi Redmi Note 7/7 Pro	20	159,21 x 75,21 x 8,1	13 Mp	Centro

Tabela 2 – Modelos mais vendidos de Smartphones

Fonte: Autoria própria (2020).

Posteriormente foi projetado uma estrutura mecânica para acoplamento (EMA) da estrutura do sensor SPR para *smartphones*, ajustada de acordo com as características e dimensões impostas na interface do aplicativo desenvolvido do MobileSPR App. O projeto foi construído de acordo com as dimensões estipuladas para o biochip polimérico descartável
de baixo custo, PPBIO, projetado para funcionar na arquitetura de Kretschmann. O encaixe deverá seguir as medidas estipuladas por Moreira et al. (2009).



Figura 13 – Design do prisma polimérico PPBIO.

Fonte: Adaptado de Moreira et al. (2009).

É possível observar na **Figura 13** que o PPBIO é composto por camadas finas metálicas, superiormente, fazendo-o se comportar como espelhos, garantindo a reflexão interna total no prisma. O fluido é confinado na região sensível, que nessas condições, quando um feixe de luz é projetado em uma de suas extremidades inferiores, incide na superfície, excitando assim o fenômeno SPR. O sinal luminoso pode ser capturado na outra extremidade do prisma, que ao combinar determinados tipos de lentes, torna possível a análise de experimentos para os modos de operação AIM e WIM (MOREIRA et al., 2009). De acordo com Oliveira et al. (2019) para que isso seja possível é necessário ajustar as condições dos sistemas ópticos, como fonte de luz polarizada, posicionamento de foco e posição de incidência.

Do mesmo modo, é deve ser possível a utilização em biochips finos, como o caso do *Virchip*. De acordo com Thirstrup et al. (2004), o *Virchip* foi projetado para ter seu funcionamento adequado com feixes colimados, incidindo perpendicularmente com comprimento de onda de 670nm. A região central do chip possui 22mm de largura e comprimento, por 1,2mm de espessura. Suas dimensões totais, compreendem 25mm de largura por 55mm de comprimento, como pode ser observado na **Figura 14**.





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

Para possibilitar que o sensor opere no modo WIM, fez-se necessário que a plataforma obtivesse também um encaixe para o posicionamento de uma lente polarizadora. Isso se deve pelo fato da luz branca incidente ser espectralmente de banda larga e não polarizada (OLIVEIRA et al., 2019), tornando necessário a utilização de lentes que possibilitem a transmissão de feixes polarizados. Para isso a estrutura deverá permitir o uso de lentes polarizadoras ou colimadoras quando necessário, as quais deverão ser posicionadas entre a luz incidente (*display* do *smartphone*) e o prisma, possibilitando a propagação dos feixes polarizados em direção ao sensor de captura de imagens do dispositivo. O feixe luminoso será irradiado pela tela do *smartphone*. Para estruturar o projeto físico foi utilizada a ferramenta $Autodesk Inventor^1$, que permite criar protótipos bidimensionais (2D) e tridimensionais (3D).

Impressão da Estrutura 3D

O desenho 3D da estrutura projetado foi impresso em uma impressora 3D, a Cliever Educational², onde foi possível utilizar o *Polylactic acid* (PLA), um tipo de material plástico derivado de resíduos orgânicos, como amido de milho, mandioca e cana-de-açúcar. Comumente utilizado por não degradar o ambiente, ser leve e resistente, a estrutura impressa com PLA possibilita uma maior versatilidade no uso de dispositivos diversos, tornando o produto impresso de fácil porte e de baixo custo de produção. As configurações utilizadas para a impressão dos modelos estão disponíveis no **Apêndice C**. A estrutura impressa sofreu ajustes mecânicos, onde cada componente foi testado para garantir uma maior integração das partes. Os componentes os quais apresentaram falhas estruturais, foram corrigidos e reprojetados. Os modelos finais do **MobileSPR Case**, estão submetidos

¹ Disponível em: https://www.autodesk.com.br/products/inventor/overview

² Disponível em: <https://www.cliever.com/>

ao registro de patente de produto, juntamente do **MobileSPR Case** no Instituto Nacional da Propriedade Industrial³.

Fase 3 - Integração

Após a impressão, a estrutura passou por testes de integração de com o *software*. Nesta atividade foi realizada a correção de defeitos e problemas adaptativos da estrutura, como a realização de pequenas perfurações, aberturas e o acabamento por meio da lixação. Essas etapas permitiram tornar as peças melhores verificando a facilidade e praticidade de sua integração com o **MobileSPR App** e o *smartphone*. Ambas as atividades ocorreram em ciclos, o que possibilitou a diminuição dos riscos do projeto de arquitetura, permitindo o desenvolvimento de novos artefatos oriundos das correções realizadas.

Fase 4 - Validação da Arquitetura

Na última etapa do processo, na Fase 4, o MobileSPR App foi validado. A validação ocorreu mediante duas etapas distintas, senso elas os testes simulados e testes de integração com *designs* experimentais já configurados em outros ensaios da literatura, onde a estrutura obtida será sujeita a testes experimentais. Na primeira etapa, o MobileSPR App, foi sujeito a testes simulados, onde será analisada a capacidade de reproduzir os resultados com base em imagens que representem a excitação do fenômeno SPR. No fim desta primeira etapa, espera-se que o aplicativo consiga reproduzir em tela curvas SPR próximas as já vistas na literatura. Após comprovada a eficiência do aplicativo nos testes simulados, ele passou por testes de integração com o MobileSPR Case, onde o design experimental visto em (OLIVEIRA et al., 2019), será repetido, afim de que o gotejamento das substâncias alvo (analíto) na superfície do biochip resultem na excitação do fenômeno SPR, validando assim os artefatos para a execução de experimentos analíticos de Surface Plasmons Ressonance. Ao final de todo o processo teve-se como entregas o artefato final do MobileSPR App, em quesitos de software e o MobileSPR Case como estrutura física. Mediante a execução das fases propostas nesse projeto, os resultados obtidos serão explanados **Capítulo 4**. Onde serão apresentados os artefatos físicos e de *software* obtidos.

3.1 Considerações do Capítulo

A princípio foi projetado o *MobileSPR App*, previamente desenvolvido com todas as funcionalidades essenciais para a análise da SPR. O *software* sofreu constantes evoluções no decorrer do projeto, de modo a se adaptar as diversas necessidades que surgiram durante as demais fases do projeto. Após o desenvolvimento do *software*, foram modelados e impressos

³ Disponível em: <https://www.gov.br/inpi/pt-br>

os protótipos do **MobileSPR Case**, que durante a fase de inspeção mecânica e testes, notou-se a necessidade de reprojetar a inteiramente sua estrutura. Foram projetados e testados 3 projetos físicos distintos, para por fim suprir às necessidades derivadas das correções realizadas. Ao final de todo o processo foi entregue um projeto composto de 2 partes, o **MobileSPR App** e o **MobileSPR Case**. Todos os resultados obtidos nesta fase são apresentados no **Capítulo 4**.

4 Resultados

Neste capítulo estão apresentados os resultados desta pesquisa, com uso da metodologia proposta apresentada na **Seção 3**. Este capítulo está organizado em 3 seções, a **Seção 4.1**, onde são apresentados os aspectos e funcionalidades dispostas no aplicativo do **MobileSPR App**, a **Seção 4.2**, em que são abordados os aspectos da estrutura física do **MobileSPR Case**, construída para suportar o biossensor e os principais componentes experimentais e a **Seção 4.3**, que aborda sobre os principais resultados experimentais obtidos através dos testes realizados.

4.1 MobileSPR App

O software desenvolvido para análises de ressonância de plasmons de superfície, o MobileSPR App, foi implementado com uso das linguagens de desenvolvimento mobile híbridas JavaScript, HTML e CSS, com uso dos Ionic Framework¹ e Angular². O aplicativo possui dois modos principais, onde podem ser visualizados por classificações de usuários destintos. O primeiro é o modo View, um modo de visualização, onde os usuários podem utilizar o sistema sem ter maiores preocupações em configurar parâmetros técnicos, pois os mesmos são pré-definidos propiciando um melhor desempenho do sistema. O outro módulo presente no aplicativo é o modo Advanced, modo avançado. Neste modo é possível configurar alguns parâmetros experimentais e analíticos. Todos os modos do aplicativo do MobileSPR App demostraram-se fluidos em diversos dispositivos, realizando 2 capturas de imagens por segundo, tempo que leva para calcular os valores e plotar no gráfico. Um resumo dos botões de funcionalidades do sistema pode ser visto na **Tabela 3**.

¹ Disponível em: <https://ionicframework.com/>

² Disponível em: <https://angular.io/>

Funcionalidades		Descrição	
٨	MIN	Selecionar método de captura de valor mínimo	
- v-	\mathbf{SM}	Secionar método de suavização de sinal	
•		Redimensionar e reposicionar fonte de luz	
ð		Exibir / Ocultar seletor de comprimento de onda	
0		Exibir / Ocultar imagens capturadas pela câmera do dispositivo	
ੈ		Fazer download dos dados para um diretório local	
DR	Y	Recapturar valores de referência	
CLI	\mathbf{EAR}	Limpar sensograma	
☞		Seletor de canal (R, G, B)	
Fonte: Autoria própria (2019).			

Tabela 3 – Resumo das Funcionalidades

As principais funções dos modos de "visualização" e "avançado", são a exibição dos índices de refração dos fluidos inseridos na célula de fluxo, que é apresentada na **Seção 4.2**, e a mostragem de sensograma dos valores mínimos da curva SPR. Esses gráficos são gerados a partir da captura de imagens e pré-processamento realizados em tempo real. As imagens capturadas são exibidas em uma pequena janela que fica sobre a tela, a qual pode ser reposicionada apenas arrastando-a para outro lugar. A exibição dos valores nos gráficos acontece de forma interativa, possibilitando o usuário manipular a aproximação (*zoom*) desejada como também selecionar os valores que se deseja visualizar. O valor selecionado aparece em uma pequena caixa informativa, contendo a posição deste valor na série de dados, nos eixos x e y. Essas informações podem ser observadas na parte inferior do aplicativo, na qual é possível observar os valores de assimetria, largura da curva SPR e valor mínimo atual, posicionados abaixo dos gráficos. Um resumo da interface do **MobileSPR App** pode ser observado na **Figura 15**.

Uma caixa colorida no topo da tela, possuindo 140 pixeis de largura por 80 pixeis altura, representa a fonte de iluminação necessária para excitar o fenômeno, a iluminação padrão está definida em 670 nanômetros, possuindo cor aproximadamente vermelha. Para a definição do comprimento de onda ideal foi seguido os parâmetros expostos em Oliveira et al. (2019).

Ainda no modo de visualização, existem duas funcionalidades globais posicionadas no rodapé do aplicativo, na barra que contém os botões de ação, o *Dry Cell*, o *Clear* e a opção de fazer *download*. Essas são responsáveis por capturar os valores de base experimentais, limpar o sensograma e armazenar os dados no dispositivo, respectivamente. O *Dry Cell* ativa-se automaticamente na primeira captura de tela, daí em diante fica na responsabilidade do usuário redefini-lo quando preciso. A opção de *download* permite ao usuário armazenar os dados experimentais da curva SPR e do sensograma. Ao clicar no botão indicado, será armazenado no diretório interno do dispositivo (/*An*-



Figura 15 – MobileSPR App - Resumo geral do modo View.

Fonte: Autoria própria (2020).

droid/data/io.ionic.starter/files) os arquivos correspondentes aos dados da curva SPR, sensograma e outros que serão discutidos posteriormente. Os dados são identificados com o nome de origem (sensograma, curvaSPR) seguidos da data e hora de armazenamento. Dentro do arquivo é identificado o local de onde foram obtidos os dados. Tais botões são os únicos presentes em ambos os modos do sistema.

Como pode ser visto na **Figura 16**, a barra de botões de ação do modo avançado, além das funcionalidades já citadas, é possível também configurar o método de suavização dos dados projetados no gráfico da curva SPR, além do método de captura de valor mínimo da curva. Na opção de suavização, o sistema apresenta ao usuário uma janela com opções como filtro de suavização de mediana e de média, apresentados na **Figura 17(a)**. Em ambas as opções o sistema solicita ao usuário que determine o tamanho da janela de dados desejada, para que seja possível realizar o procedimento, como visto na **Figura 17(b)**.

Como expresso na **Figura 17(c)**, na escolha dos métodos de seleção de mínimo o usuário pode optar pelo método de caça ao mínimo (*Minimo Hunt*), centroide com lina base fixa (*Base Line*) ou método do polinômio (*Polynomial*). Para o método de linha de base do centróide o usuário deve informar o valor de linha base desejado, estando entre 0

e 1, e para o método do polinômio deve ser informado a quantidade de *pixeis* próximos representativos para o valor do mínimo.



Figura 16 – Mobile
SPR App - Barra de botões de ação.

Fonte: Autoria própria (2019).

Figura 17 – MobileSPR App - Detalhes para as opções disponíveis ao selecionar suavização e mínimo.

	Interval	Choose the minimum method		
Choose the smoothing method	Enter the value of the window	Minimum Hunt		
 Median Filtering 	Window Value	O Base Line		
Averaging		O Polynomial		
CANCEL OK	CANCEL SAVE	CANCEL OK		
(a) Métodos de suavização	(b) Seu respectivo intervalo de atuação	(c) As opções para os métodos de detecção do valor mínimo		

Fonte: Autoria própria (2019).

No segundo botão da barra de botões de ação é possível configurar os parâmetros de posicionamento da fonte de luz, como também o seu tamanho. Essa funcionalidade possibi-

lita o uso do aplicativo em diferentes dispositivos, independentemente do posicionamento da câmera frontal do *smartphone*, como também o tamanho do prisma.

Como ilustrado na **Figura 18**, ao clicar no botão da fonte de luz é apresentada uma janela para a inserção dos valores de dimensão da fonte de luz, onde o usuário deve inserir os valores desejados de altura e largura. As dimensões padrões correspondem ao tamanho do PPBIO de 22x26mm em *pixels*, que convertidos para o sistema se aproximam de $100px \ge 140px$. O posicionamento da fonte de luz é feita totalmente de forma interativa, o usuário pode deslocá-la para o local desejado usando o *touch screen* do *smartphone*, tornando mais prática a interação do usuário com o aplicativo.

Figura 18 – MobileSPR App - Opção disponível da configuração da fonte de luz emitida pelo display do smartphone.

Dimensions of the Light Source

height: [100] base value

width: [140] base value

CANCEL SAVE

Fonte: Autoria própria (2019).

Como visto na **Figura 19**, no terceiro botão da barra, é possível ocultar/exibir o seletor de comprimento de onda que é apresentado abaixo da fonte de luz na parte superior do *display* do dispositivo. Parte do *display* do próprio dispositivo foi utilizado como fonte de luz, pois, em comparação ao *flash*, contido no *smartphone*, seu consumo energético é menor, além desse recurso já estar necessariamente em uso, dalém de possibilitar a mudança cromática do comprimento de onda, indisponível para o recurso do *flash*. O seletor é configurado para valores entre 380 à 670 nanômetros, além de permitir a seleção da cor branca, com comprimento de onda não determinado.

Para a conversão do comprimento de onda (w) para um valor de coloração hexadecimal foram seguidos alguns passos. Primeiramente o algoritmo deve observar o valor de w passado pelo usuário, e de acordo com o intervalo do valor informado, são atribuídos valores para variáveis que receberão o resultado em RGB. Cada variável receberá um valor que será multiplicado pelo fator, que quando o comprimento de onda for entre 380 e 420 recebe 0, 3 + 0, 7x(w - 380)/(420 - 380), quando for de 420 até 701 recebe 1 e de 701 à 781 ele recebe 0, 3 + 0, 7x(780 - w)/(780 - 700). Após isso o resultado obtido é elevado ao valor gamma, que neste caso é constante e equivale a 0.80. Após esse processo,



Figura 19 – MobileSPR App - Seletor de comprimento de onda.

Fonte: Autoria própria (2019).

Tabela 4 – Conversão de comprimento de onda (nm) para coloração (Hex).

Condição	R	G	В
380 à 440	-(w - 440)/(440 - 380)	0	1
440 a 490	0	(w - 440)/(490 - 440);	1
490à 510	0	1	-(w - 510)/(510 - 490)
$510 \ge 580$	(w - 510)/(580 - 510);	1	0
$580 \ge 645$	1	-(w - 645)/(645 - 580);	0
645 à 781	1	0	0

Fonte: Autoria própria (2020).

teremos posse de valores para R, G e B que serão convertidos de valores numéricos decimais para hexadecimal, utilizando bibliotecas específicas para esta conversão. Todo o processo supracitado pode ser observado na **Tabela 4**.

No último botão presente apenas no modo avançado, é possível optar por exibir ou ocultar as imagens da câmera exibidas em tempo real. Todos os valores configurados no modo avançado são carregados no modo de visualização. Desta forma é possível reconfigurar todos os parâmetros possíveis e obtê-los também no modo de visualização.

4.1.1 O Fluxo de Execução

Ao ser executado pela primeira vez no dispositivo, o **MobileSPR App**, solicita ao usuário as permissões de acesso à câmera e ao armazenamento interno do *smartphone*. Durante o seu fluxo de execução, o aplicativo inicia o serviço de câmera, implementado com o auxílio dos recursos do *CâmeraPreview* do *Cordova*³. Logo em seguida ele faz uma verificação se o serviço supracitado está habilitado, e inicia a captura das imagens da câmera do dispositivo, por meio de uma chamada recursiva, onde o processo será executado enquanto o aplicativo estiver em funcionamento. O processo de leitura e pré-processamento dos dados acontece logo após, onde os dados obtidos por meio da análise da imagem é salvo temporariamente, já no formato de série de dados. Uma verificação é realizada, onde os valores da célula seca são varridos, e caso sejam eles nulos os valores atuais são inseridos na série de dados que representa a célula seca, caso contrário os dados são inseridos na série de dados da célula molhada.

Após o processamento anterior, os dados são inseridos no gráfico, e caso o usuário deseje atenuar os impactos de interferências externas, há a possibilidade de aplicação de métodos de suavização. Estão disponíveis atualmente 2 métodos de suavização de dados, que são aplicados nas séries de dados antes da exibição no gráfico, são elas a média e a mediana.

O serviço de sensograma é chamado para que seja feito o processamento para serem exibidos neste gráfico. Neste módulo é calculado o valor mínimo da curva SPR, por meio de algoritmos como caça ao mínimo, método polinomial (regressão ou interpolação) e o método de centroide. Estes métodos podem ser alternados pelo usuário no modo avançado do sistema, mas como padrão é utilizado o método tradicional de caça ao mínimo. Após a realização do cálculo, os valores são colocados no gráfico de sensograma, esses valores são utilizados ainda para realizar o cálculo da assimetria e largura da curva. O último processo do aplicativo é a verificação de término, caso o aplicativo seja encerrado, o processo termina, caso contrário o método de tirar foto é chamado, como já explicado. Todo esse processo pode ser visualizado de forma detalhada na **Figura 20** e na **Figura 21**.

³ Disponível em: <https://cordova.apache.org/>





Fonte: Autoria própria (2020).



Figura 21 – MobileSPR App - Fluxograma.

Fonte: Autoria própria (2020).

4.2 MobileSPR Case

Diante da metodologia sugerida, o projeto de **MobileSPR Case** foi pensado e desenvolvido baseado na premissa de que deveria ser adaptável para diversos tipos de *smartphones*. Desta forma, nas etapas de projeto e construção da EMA do sensor, foram consideradas as características obtidas no estudo de *smartphones* realizado e apresentado na **Seção 3**. Dentre essas características podem ser citadas as dimensões dos dispositivos, cuja a altura, a largura e espessura variam entre 150.9 à 159.21 mm, 72.3 à 75.8 mm e 8.1 à 8.6 mm, respectivamente. Assim, a estrutura projetada inicialmente foi desenvolvida para possibilitar uma maior flexibilidade no uso de dispositivos diversos. A primeira estrutura, denominada de EMA1, consiste de 5 partes, sendo elas: plataforma de suporte, gaveta para lentes, mancal, *clip* adaptador e a célula de fluxo. Esses componentes podem ser observados **Figura 22**.



Figura 22 – MobileSPR Case 1.0 - visão panorâmica.

Fonte: Autoria própria (2019).

A plataforma de suporte possibilita o encaixe de todas as peças essenciais para o experimento SPR. Ela possui 31 mm de largura, 36 mm de altura, por 20 mm de profundidade. Sua estrutura consiste em uma abertura central possuindo 21 mm de largura, 26 mm de altura e 7.5 mm de profundidade, servindo de encaixe para o PPBIO.

Para que fosse possível permitir a passagem da luz que irá percorrer o prisma, foram projetadas duas aberturas de 5 mm de altura por 17 mm de largura nas extremidades do encaixe, às quais servirão de entrada e saída dos feixes luminosos. A estrutura possui uma haste cilíndrica de 40 mm de comprimento e 7 mm de diâmetro. Essa haste possibilita a adaptação lateral do sensor, tornando-o móvel para que seja possível utilizá-lo em dispositivos diversos, não importando-se com a disposição da câmera em sua superfície. Tais detalhes podem ser observados na **Fígura 23(a)**.

A **Figura 23(b)** ilustra a superfície frontal da estrutura, onde é localizada uma abertura de 3 mm de altura, 21 mm de largura e 23 mm de profundidade. Esta abertura torna possível a inserção de lentes polarizadoras circulares de até, no máximo, 12 mm de circunferência, através de uma gaveta. A gaveta é ilustrada na **Figura 24**.



Figura 23 – Plataforma de suporte do MobileSpr Case.

(a) Visão superior do suporte



(b) Visão frontal do suporte Fonte: Autoria própria (2019).

Figura 24 – Gaveta para lentes.



Fonte: Autoria própria (2019).

Acima do suporte é localizada a célula de fluxo. Como pode ser observado na **Figura 25(a)**, o componente possui dimensões de 31x36 mm, com uma elevação de 2.5 mm na superfície inferior, que auxilia na acoplagem da célula de fluxo na plataforma de suporte. Na mesma superfície são localizados 2 orifícios de formatos cilíndricos, de aproximadamente 1.20 mm de circunferência. Estes orifícios facilitam a inserção e sucção dos fluidos através da célula de fluxo, que possuem prolongamentos na região interior do objeto, alcançando a região frontal, onde os fluidos podem ser inseridos e ejetados facilmente. A célula de fluxo tem como característica fundamental, além de possibilitar o confinamento do fluido, o bloqueio da luz ambiente, que pode interferir nos resultados experimentais obtidos. Os dutos de inserção e sucção dos fluidos, e suas dimensões, podem ser observados na **Figura 25(b)**.







(a) Visão inferior da célula de fluxo
 (b) Visão frontal da célula de fluxo
 Fonte: Autoria própria (2019).

Para ser possível tornar a estrutura adaptável para diversos dispositivos móveis e ceder um maior grau de liberdade aos componentes, um mancal é encaixado na haste de adaptação posicional da plataforma de suporte, como ilustrado na **Figura 26(a)**. Como pode ser observado na **Figura 26(b)**, o mancal possui um orifício em sua lateral, que torna possível a inserção de um grampo para prendê-la na plataforma em uma posição fixa, dando praticidade ao seu manuseio. O orifício central da peça possui as dimensões ideais para a passagem da haste de adaptação. A parte inferior do componente é inserido em um *clip*, o qual auxilia na fixação dos componentes no corpo do *smartphone*.

Figura 26 – Mancal do MobileSpr Case.



Fonte: Autoria própria (2019).

O *clip* auxilia no ajuste da estrutura, exercendo uma força contra a tela do *smartphone* que possibilita uma fácil adesão. Como visto no mancal, ele também possui um pequeno orifício em sua lateral, no qual possibilita a sua fixação no mancal. Como pode ser observado na **Figura 27**, uma base de aproximadamente 18 mm possibilita o encaixe no dispositivo móvel.

Figura 27 – Clip adaptador do MobileSPR App.



Fonte: Autoria própria (2019).

A integração dA EMA1 com o **MobileSPR App** apresentou bons resultados. Com um aplicativo fluido e uma estrutura de fácil manuseio e portabilidade, o projeto pode ser proposto para uso em laboratórios, ambientes de pesquisa e ambientes externos. A integração das partes do projeto pode ser observada na **Figura 28**.



Figura 28 – Integração do MobileSPR App com o MobileSPR Case versão 1.0.

Fonte: Autoria própria (2019).

Mesmo a estrutura do **MobileSPR Case** 1.0, dispondo de todas os requisitos para a execução dos experimentos de SPR, na etapa de impressão do projeto, foram detectados alguns pontos aos quais impossibilitaram a continuidade do modelo. Um dos fatores negativos foi o desenho do mancal, pois por possuir medidas razoavelmente pequenas, e ser impresso em material plástico PLA (Poli Ácido Láctico), o mesmo apresentou partes muitos sensíveis e facilmente quebráveis ao esforço mínimo para o qual foi projetado. Outro fator, foi o modelo proposto para célula de fluxo, o qual teve suas medidas superestimadas, deixando a desejar no fator funcional ao ser impresso, demonstrando-se inútil para a contensão dos fluidos. Além disso, o *clip* adaptador apresentou problemas na adesão ao *smartphone*, pois não apresentou uma fixação suficiente com os *smartphones* testados.

MobileSPR Case Versão 1.1

A partir dos problemas identificados no primeiro projeto estrutural do **MobileSPR Case**, foi proposto uma segunda versão a qual apresentaria um número reduzido de peças minúsculas e independentes, resultando em um componente com apenas 2 peças complementares. Essas peças proporcionariam a acoplagem dos componentes ópticos e a adesão ao dispositivo móvel. Na parte da acoplagem dos componentes, foram mantidas as dimensões básicas da plataforma de suporte, com apenas alguns ajustes nas dimensões externas. O *clip* adaptador foi anexado na plataforma de suporte, de forma a permitir maior estabilidade na fixação dos componentes. Desta forma reduzindo a necessidade da existência da haste de adaptação posicional e do mancal. Do modelo anterior foram mantidos o encaixe na parte superior para o PPBIO e a entrada para a gaveta com as lentes de *Fresnel*, esses ajustes podem ser observados na **Figura 29**.



Fonte: Autoria própria (2020).

Na **Figura 30** é possível observar que a plataforma de suporte sofreu adaptações, entre elas a redução em 1 mm cada dimensão, passando assim a ter 35 mm de comprimento, mais 40 mm da parte superior do *clip*, 30 mm de largura por 20 mm de altura. Outra alteração pode ser observada nas aberturas para a entrada e saída da luz, que foram ajustadas em 3 mm de comprimento e 1 mm de largura, passando a ter 20 mm e 4 mm respectivamente. Do modo a entrada para a inserção das lentes foi ajustada em 1 mm de comprimento e largura, resultando em 25 mm x 20 mm, por 3 mm de espessura.



Figura 30 – MobileSPR Case 1.1 - visão geral superior.

Fonte: Autoria própria (2020).

Na parte inferior da estrutura física, é inserido um *clip* de 75 mm de comprimento por 7 mm de espessura, com um rebaixamento em seu centro de aproximadamente 3 mm. Esse rebaixamento permite que seja possível apoiar *smartphone* em uma área de 37.5 mm de comprimento por 20 mm de largura. Como pode ser observado na **Figura 31**, em sua parte superior encontra-se um semi-círculo de aproximadamente 10 mm de diâmetro, responsável pelo encaixe no componente.





Fonte: Autoria própria (2020).

Mesmo o **MobileSPR Case** 1.1 obtendo resultados superiores a sua versão anterior, problemas como a dificuldade de impressão da peça, pela impressora 3D utilizada, dificuldade de encontrar a mola com força devida para o ajuste na fixação das duas partes existentes, e a condição de estabilidade do *smartphone* com as peças, promoveram a necessidade de retomar a **Fase 2**, modelagem e impressão de uma nova estrutura física. Tais limitações, foram crusciais para a redefinição do *layout* do **MobileSPR Case**, trazendo a tona a necessidade de remodelar a peça de forma a mitigar os problemas encontrados nas versões já elaboradas. Desta forma, uma nova versão do Case foi proposta.

MobileSPR Case Versão 2.0

Um terceiro modelo do **MobileSPR Case** foi projetado com foco na obtenção de um *design* mais minimalista, e que possibilitasse uma melhor adaptação e fixação nos dispositivos móveis. Neste modelo, a possibilidade de locomoção da peça foi trocada por uma base fixa com o encaixe para o *smartphone*, possibilitando um melhor ajuste para o dispositivo, e eliminando a necessidade de clip. Como pode ser visualizado na **Figura 32**, a adaptação para os diferentes posicionamentos dos dispositivos de captura ficou por conta da plataforma de suporte, onde a mesma pode ser encaixada facilmente na base e posicionada na localização desejada, por meio do deslizamento da esquerda para a direita.



Figura 32 – MobileSPR Case 2.0 - visão geral.

Fonte: Autoria própria (2020).

Conforme foi supracitado, a Base do **MobileSPR Case** possui como função a acoplagem com o *Smartphone*, para isto é disposto em sua parte frontal uma abertura de 71 mm de largura por 8 mm de espessura, possibilitando o encaixe em uma profundidade de 46 mm. Em sua superfície existe uma abertura de 37 mm de comprimento por 71 mm de largura, por onde vai ser inserido a Plataforma de Suporte. No total, a Base ocupará apenas 54 mm do comprimento total da tela do dispositivo nela inserida, e possui suporte para *smartphones* de até 71 mm de largura, podendo ser ajustado posteriormente até

75 mm com ajustes na entrada para o *smartphone*. As dimensões da Base podem ser observadas na **Figura 33**.



Figura 33 – MobileSPR Case 2.0 - Base.

Fonte: Autoria própria (2020).

A Plataforma de Suporte foi construída separadamente da Base, para simplificar o processo de impressão. Com 37 mm de comprimento por 31 mm de largura, a plataforma possui um encaixe superior de 30 mm de comprimento por 26 mm de largura, por onde vai ser inserido o prisma PPBIO. Abaixo dessa superfície existem 2 (duas) aberturas circulares para a inserção das lentes de *Fresnel*, com 12.3 mm de diâmetro, e abaixo uma abertura retangular de 6 mm de comprimento por 10 mm de largura para a sustentação das lentes. A mobilidade da plataforma está situada em sua haste de 44 mm de comprimento por 4 mm de largura e altura, que tem como utilidade o deslizamento lateral na Base. Uma das vantagens que foram inseridas no **MobileSPR Case** 2.0, foi uma abertura frontal de 26 mm de largura por 3 mm de espessura, onde pode ser utilizado tanto para a inserção de uma gaveta que possibilite o encaixe de novas lentes, caso necessário, como também para a inserção de um biosensor em estrutura de grade. As alterações da Plataforma de Suporte podem ser observadas na Figura 34.



Figura 34 – MobileSPR Case 2.0 - Plataforma de Suporte.

Fonte: Autoria própria (2020).

A versão 2.0 do **MobileSPR Case** desenvolvida, apresenta em suas variações físicas, melhorias relacionadas as versões anteriores. Defeitos presentes nas demais estruturas foram corrigidas na versão atual. A evolução dos *designs* do **MobileSPR Case** resultaram em um consumo maior de material no processo de impressão, consumo esse oriundo das melhorias estéticas e funcionais apresentadas nas versões seguintes de cada modelo.

Uma vantagem desta versão em comparação com as demais é que nela é possível realizar testes com outro biochip, além do PPBIO, neste caso com o *Virchip*. Este chip, é um biosensor de construção a base de copolímero de ciclo-olefina moldado a injeção, que normalmente é utilizado para realização de experimentos SPR baseados no modo de variação angular, cujo utiliza de elementos de acoplamento óptico difrativo (DOCE) na entrada e saída, que facilitam que a luz incidente atinja a superfície do biochip de forma perpendicular (HOMOLA; PILIARIK, 2006; THIRSTRUP et al., 2004).

Este novo modelo, possibilitou a realização de testes experimentais, já que um

dos principais problemas encontrados foi a ausência de um biochip PPBIO em condições aceitáveis para a excitação do fenômeno SPR. A montagem do **MobileSPR Case**, versão 2.0, com o *Virchip* é apresentada na **Figura 35**.



Figura 35 – MobileSPR Case - Montagem com o Virchip.

Fonte: Autoria própria (2020).

O processo da elaboração de protótipos evolutivos do **MobileSPR Case**, teve como objetivo o aperfeiçoamento e otimização das funcionalidades e da usabilidade do produto. As dificuldades que motivaram a evolução dos protótipos, juntamente de suas vantagens em comparação aos demais, estão expostas na seção de comentários, que foram descritos na **Tabela 5**.

Modelo	PLA	Custo	Horas	Comentários	Compatíve com Vir- chip
1.0	22g	R\$ 1,76	6	Problemas com o mancal; Problemas no apoio traseiro.	Não
1.1	25g	R\$ 2,00	7.5	Problemas no pino flexível; Problemas na fixação.	Não
1.0	51g	R\$ 4,08	11.5	Encaixe para evitar pino; Cé- lula de fluxo melhor ajus- tada; Possibilidade de uso com PPBIO e VIR biochip; Adaptação da EMA para <i>smartphones</i> com câmeras frontais em posições distin- tas sem a necessidade de des- montar a case.	Sim

Tabela 5 – Comparativo dos modelos do MobileSPR Case desenvolvidos

Fonte: Autoria própria (2020).

Para estimar o custo das versões do **Mobile SPR Case**, foram utilizados como tarifas inclusas o preço do filamento de PLA de 1Kg, que na data da realização da pesquisa, foi encontrado por aproximadamente R\$ 80,00. Vale ressaltar, que na **Tabela 5**, não está estimado o custo total com o gasto energético. Assim, esse custo deve ser agregado ao valor informado. Atualmente, no Estado do Rio Grande do Norte, o custo médio de consumo do KW/h é de aproximadamente R\$ 0,42. A Cliever Educational demanda em média 0,2 KW/h de consumo energético, consumindo 1KW/h a cada hora de impressão. A função de custo expressa na **Tabela 5**, é informada pelo *software* próprio da Cliever, que realiza o cálculo com base no custo de material próprio comercializado pela empresa.

4.3 Testes Experimentais

Com os artefatos desenvolvidos, foi elaborado um conjunto de etapas de validação do **MobileSPR App** e do **MobileSPR Case**. O intuito desta etapa foi demonstrar o cumprimento funcional dos artefatos, como também investigar e expor possíveis fragilidades de projeto que possam ter ocorrido durante o seu desenvolvimento, assim podendo serem corrigidas. Os testes foram divididos em duas etapas, primeiro foi realizado o teste simulado do **MobileSPR App**, onde foi averiguado se o aplicativo tem o comportamento esperado na presença do fenômeno SPR, e em seguida os artefatos foram submetidos aos testes integrados, onde foi averiguada a funcionalidade do projeto **MobileSPR** (App e Case) como um todo.

Testes Simulados

Nesta etapa de testes o **MobileSPR App** foi submetido a testes funcionais, com o auxílio de imagens que simulavam as respostas SPR. Para a realização da simulação da ocorrência do fenômeno SPR, uma *sulfite* A4 foi utilizada, onde foi demarcada com caneta preta um feixe vertical, representando uma possível aparição do fenômeno SPR. Desta forma, imulando o resultado do reflexo do feixe de luz, capturado pela câmera do dispositivo, ao ocorrer o fenômeno SPR na inserção do analito sobre o biochip. A região demarcada com o feixe vertical preto foi movimentado da direita para a esquerda, simulando o que ocorreria na troca da substância analisada. Na **Figura 36** podemos observar a simulação do deslocamento da curva SPR, demonstrando a aptidão do **MibileSPR App** para registrar e exibir graficamente os resultados oriundos da excitação do fenômeno SPR. Claramente, é necessário que sejam realizados testes com os dispositivos ópticos para obter uma avaliação precisa, porém é visível que o *software* desenvolvido cumpre com os requisitos aos quais os foram destinados.

Figura 36 – MobileSPR App - simulação da troca de substâncias na superfície do biochip, por meio do deslocamento da imagem com a dimensão escura da esquerda para esquerda.



(a) Visualização da curva SPR simulando a inserção de H2O na superfície do biochip



(b) Visualização da curva SPR simulando a inserção de NaClO na superfície do biochip



Os resultados obtidos a partir da simulação do deslocamento da curva podem ser observados no gráfico de sensograma, onde são armazenados e exibidos os valores mínimos das curvas apresentadas. Tais resultados representam os eventos de associação, dissociação e regeneração ao realizar a troca de substâncias presentes acima do biochip. Os valores de mínimo podem ser observados na **Figura 37**.



Figura 37 – MobileSPR App - Representação dos valores mínimos das curvas SPR simuladas no aplicativo.

Fonte: Autoria própria (2020).

Testes Integrados

Na etapa de testes integrados foi averiguado o funcionamento conjunto dos componentes, de forma a validar o projeto **MobileSPR** integradamente. Nesta etapa foi verificada a harmonia na integração do **MobileSPR Case** com o *smartphone*, Xiaomi Mi 9 Lite, e a usabilidade da interface gráfica do **MobileSPR App**.

Para a realização dos testes foi utilizado o **MobileSPR Case 3.0**, uma lente polarizadora, e uma lente de *Fresnel* (FRP0510)⁴ para colimar os feixes que vão em direção à entrada do prisma. Para que possibilitasse um melhor ajuste, foram realizados experimentos com as lentes em posições distintas. Devido a indisponibilidade de um PPBIO em condições aceitáveis para a realização dos testes, foi necessário utilizar a grade Virchip. A Virchip possui os mesmos aspectos ópticos do PPBIO, apresentando apenas algumas dimensões diferentes. De qualquer modo, o **MobileSPR Case** é adaptável o suficiente para comportar esses componentes ópticos distintos.

Na realização dos experimentos, as lentes foram empilhadas na entrada do sinal luminoso, como exemplificado em Moreira et al. (2009). O sinal que chegava por meio da câmera do *smartphone* foi capturado com a célula vazia, apenas com a presença do ar, mais conhecidamente como *dry cell*, ou célula seca, a resposta do sinal capturado pode ser observado na **Figura 38**.

⁴ Disponível em: https://www.thorlabs.com/newgrouppage9.cfm?objectgroup d=1222>



Figura 38 – Sinal da célula seca (Dry Cell) capturado pelo aplicativo.

Fonte: Autoria própria (2020).

Com o sinal da célula seca (vazia) registrado, foi inserido por gotejamento uma pequena quantia de água desionizada na superfície do biochip. Diferentemente da água mineralizada, a água desionizada passa por um processo químico que tem como propósito produzir água pura, isenta de partículas e substâncias orgânicas, assemelhando-se a água destilada (TAVARES et al., 2004; ZERAIK et al., 2008). A análise dos dados por meio do aplicativo possibilitou a visualização de uma pequena curva que se formava após a inserção da substância, que registrava como ponto mínimo o valor de 100px. Então, a amostra contida sobre o biochip foi aspirada, por meio de um gotejador, pare permitir a inserção de novas substâncias. Em seguida, para confirmar que se tratava de fato da excitação do fenômeno SPR, foi realizado o gotejamento de hipoclorito de sódio (NaClO), esperando-se que houvesse o deslocamento da curva, como ilustrado na literatura. A faixa escura que se apresentou na tela, deslocou-se para o lado esquerdo, trazendo assim o valor mínimo para 94px, e confirmando que se tratava da excitação do fenômeno. As curvas resultantes desse experimento podem ser observadas na **Figura 39**.

Figura 39 – Sinais de saída do experimento após o gotejamento das substâncias (*Wet Cell*) capturados pelo aplicativo.



Fonte: Autoria própria (2020).

A **Tabela 6** exibe os outros parâmetros extraídos das curvas SPR produzidas para H2O e NaClO, são respectivamente eles; o valor de reflexividade mínima 0,8023 e 0,6617, a assimetria da curva 12,7272 e 1,3076, largura da curva 151 e 30, e a energia total da região não-radioativa da curva 35,9937 e 30,5149. Através destes valores é possível observar o comportamento das substâncias em análise (analito), e realizar futuros experimentos comparativos com demais pesquisas que elenquem o sensoriamento de substâncias com análise de ressonância de *plasmons* de superficie em dispositivos móveis (*smartphones*).

Tabela 6 –	Comparativo	o dos parâm	etros de re	efletividade	mínima,	largura, a	assimetria	e ener-
	gia total das	curvas SP	R obtidas	através de	e experim	entos con	n as subst	tâncias
	H2O e NaCl	О.						

Característica/Analito	H2O	NaClO
Valor Mínimo Hunter	100	94
Refletividade Mínima (Hunter)	0,8023	$0,\!6617$
Valor Mínimo Centroide	$150,\!4807$	94,9622
Refletividade Mínima Centroide	0,8884	0,6693
Mínimo Polinomial	108	94
Refletividade Mínima Polinomial	0,8216	$0,\!6936$
Largura	77	30
Assimetria	12,7272	$1,\!3076$
Energia Total	$35,\!9937$	30,5149

Fonte: Autoria própria (2020).

5 Conclusão

Neste capitulo serão apresentadas as conclusões a cerca desta pesquisa, as limitações encontradas durante o desenvolvimento e sugestões de trabalhos os quais podem ser derivados desta pesquisa, a serem desenvolvidos futuramente.

O presente trabalho teve como propósito o desenvolvimento uma infraestrutura física e lógica para experimentos SPR com biochips espessos e finos baseados em *smartphones*. Assim, promovendo o desenvolvimento de meios para a experimentação da ressonância *plasmons* de superfície de forma portátil, provendo aos pesquisadores uma flexibilidade no uso em ambientes diversos, não se restringindo aos laboratórios de pesquisa. Para este fim, foram desenvolvidos o **MobileSPR App** e o **MobileSPR Case**, artefatos que juntos compõem a infraestrutura necessária para possibilitar o sensoriamento de substâncias com uso da Ressonância de *plasmons* de superfície em *smartphones*.

O MobileSPR App, é o artefato de *software* desenvolvido nesta pesquisa, que apresenta como funcionalidade principal a análise do fenômeno SPR em dispositivos móveis. Esta ferramenta, que foi desenvolvida para dispositivos com sistema operacional *Android*, dispõe aos usuários uma interface intuitiva e de fácil uso, pré-configurada para o sensoriamento, como também permite o manuseio e configurações de padrões e métodos de análise de séries de dados. Com o App é possível visualizar graficamente, na tela do *smartphone*, todos os experimentos realizados no dispositivo. Como diferencial dos demais aplicativos de mesmo objetivo, elencados nesta pesquisa, está a possibilidade de adaptar-se facilmente a diversos modelos de dispositivos móveis, os quais apresentem diferentes padrões de sensores de captura. Outro diferencial encontra-se na disponibilidade do uso de diferentes comprimentos de onda, possibilitando também o uso de biochips de diferentes tipos de materiais.

O MobileSPR Case é o segundo artefato produzido nesta pesquisa que representa a parte física do sensor SPR. Este, permite o acoplamento dos biochips (PPBIO ou VIR biochip) e instrumentos de manipulação óptica, a exemplo das lentes de *Fresnel*. Também contempla a possibilidade de uso em uma gama de *smartphones* distintos, os quais possuam diferentes posicionamentos dos seus dispositivos frontais de captura de imagens. Sua estrutura oferece uma melhor ergonomia, adaptando-se bem aos *smartphones* e permitindo o manuseio natural do *smartphone* do mesmo modo que sem o Case.

Como resultadas do presente trabalho foi publicado o artigo "MobileSPR App and Case: a combined logical and mechanical solution for surface plasmon resonance sensors based on smartphone", na *IEEE Sensors Journal*¹ (DOI: 10.1109/JSEN.2021.3080223),

 $^{^{1} \}quad \mathrm{IEEE\ Sensors\ Journal.\ Dinsponível\ em:\ https://ieeexplore.ieee.org/xpl/RecentIssue.jsp?punumber=7361}$

como também, foi solicitado o registro de *software*, do **MobileSPR App**, que tramita sob o número de protocolo 512021000979-7.

Com isso, conclui-se que a solução de *software* e estrutura mecânica de acoplamento, além de serem extremamente portáteis, são funcionais. Os resultados obtidos no capítulo anterior, demonstram que os artefatos desta pesquisa, mesmo precisando de alguns ajustes, possuem um grande potencial para a execução e uso em experimentos de análise SPR. Alguns pontos podem ser destacados como possíveis melhorias e incrementos desta pesquisa, estes são indicados na próxima **Seção 5.1**.

5.1 Trabalhos Futuros

Como possíveis perspectivas de trabalhos futuros decorrentes desta pesquisa, têm-se:

- 1. Testes de inspeção para o uso de novos materiais para impressão das EMAs, como por exemplo o ABS;
- 2. Projeção de aperfeiçoamento para otimização no uso de material, na rapidez e qualidade;
- Aperfeiçoar o projeto da célula de fluxo do MobileSPR Case, de forma a validar o uso do produto;
- Averiguar as condições necessárias para corrigir o problema da assimetria das curvas SPR;
- 5. Projetar melhorias que reduza aos impactos do alinhamento manual dos componentes ópticos;
- 6. Projeto e construção da célula de fluxo com controle de luminosidade ambiente;
- 7. Realizar experimentalmente testes funcionais em aparelhos com sistema operacional iOS;
- 8. Analisar uma possível melhoria no desempenho em demais plataformas de desenvolvimento.

Como possíveis sugestões para serem implementados, pode-se citar:

- 1. Adicionar o serviço de geolocalização, compartilhamento e colaboração de resultados;
- 2. Experimentos com luz branca;
- 3. Experimentos com canais de cores (verde e azul).

Referências

BIJALWAN, A.; RASTOGI, V. Spr gas sensor using bimetallic structure based on gold grating-aluminum film. In: IEEE. 2017 IEEE Workshop on Recent Advances in Photonics (WRAP). [S.l.], 2017. p. 1–3. Citado na página 24.

CAO, W.; DENG, Y.; PAN, T.; HAO, H.; WANG, M. Refractive index monitoring technique using a smartphone based on the metal nanoshell array sensing method. *IEEE Photonics Journal*, v. 11, n. 5, p. 1–8, 2019. Citado na página 13.

CHAITRA, S.; VEENA, C.; RAO, K. S.; SHARAN, P. Spr based biosensor for the detection of abnormal growth of tissues. In: IEEE. 2017 International Conference on Nextgen Electronic Technologies: Silicon to Software (ICNETS2). [S.1.], 2017. p. 149–153. Citado na página 13.

de Sousa, T. A. T.; Oliveira, L. C.; Loureiro, F. C. C.; Lima, A. M. N.; Neff, H. Evaluating the signal processing chain employed in surface plasmon resonance biosensing. In: 2014 *IEEE International Instrumentation and Measurement Technology Conference (I2MTC) Proceedings.* [S.l.: s.n.], 2014. p. 1606–1611. Citado 2 vezes nas páginas 30 e 31.

DUTTA, S.; SAIKIA, K.; NATH, P. Smartphone based lspr sensing platform for bio-conjugation detection and quantification. *RSC Adv.*, The Royal Society of Chemistry, v. 6, p. 21871–21880, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1039/C6RA01113F. Citado 3 vezes nas páginas 14, 16 e 22.

FILHO, C. A. de S.; LIMA, A. M.; NEFF, H. Smartphone based, portable optical biosensor utilizing surface plasmon resonance. In: IEEE. 2014 IEEE International Instrumentation and Measurement Technology Conference (I2MTC) Proceedings. [S.l.], 2014. p. 890–895. Citado 2 vezes nas páginas 20 e 22.

FREIRE, C. da S.; MOREIRA, C. da S.; FILHO, C. A. de S.; CRUZ, R. M. S.; FALQUETO, A.; VALLE, A. L.; FILHO, L. R. G.; MEDEIROS, E. S. de; FERREIRA, K. do N. Application of a smartphone-based spr platform for glyphosate detection. In: IEEE. 2019 IEEE Sensors Applications Symposium (SAS). [S.1.], 2019. p. 1–6. Citado na página 13.

GENG, Z.; ZHANG, X.; FAN, Z.; LV, X.; SU, Y.; CHEN, H. Recent progress in optical biosensors based on smartphone platforms. *Sensors*, v. 17, n. 11, 2017. ISSN 1424-8220. Disponível em: https://www.mdpi.com/1424-8220/17/11/2449. Citado na página 14.

GUNER, H.; OZGUR, E.; KOKTURK, G.; CELIK, M.; ESEN, E.; TOPAL, A. E.; AYAS, S.; ULUDAG, Y.; ELBUKEN, C.; DANA, A. A smartphone based surface plasmon resonance imaging (spri) platform for on-site biodetection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 239, p. 571 – 577, 2017. ISSN 0925-4005. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092540051631293X>. Citado 3 vezes nas páginas 15, 17 e 22.

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. Citado na página 13.

HOMOLA, J.; PILIARIK, M. Surface plasmon resonance (spr) sensors. In: *Surface plasmon resonance based sensors*. [S.l.]: Springer, 2006. p. 45–67. Citado 3 vezes nas páginas 24, 25 e 58.

JUNG, Y.; KIM, J.; AWOFESO, O.; KIM, H.; REGNIER, F.; BAE, E. Smartphone-based colorimetric analysis for detection of saliva alcohol concentration. *Appl. Opt.*, OSA, v. 54, n. 31, p. 9183–9189, Nov 2015. Disponível em: http://ao.osa.org/abstract.cfm?URI=ao-54-31-9183. Citado na página 13.

KRETSCHMANN, E.; RAETHER, H. Radiative decay of non radiative surface plasmons excited by light. *Zeitschrift für Naturforschung A*, Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, v. 23, n. 12, p. 2135–2136, 1968. Citado 3 vezes nas páginas 8, 24 e 25.

LIU, Q.; YUAN, H.; LIU, Y.; WANG, J.; JING, Z.; PENG, W. Real-time biodetection using a smartphone-based dual-color surface plasmon resonance sensor. *Journal of biomedical optics*, International Society for Optics and Photonics, v. 23, n. 4, p. 047003, 2018. Citado 2 vezes nas páginas 19 e 22.

LIU, Y.; LIU, Q.; CHEN, S.; CHENG, F.; WANG, H.; PENG, W. Surface plasmon resonance biosensor based on smart phone platforms. *Scientific reports*, Nature Publishing Group, v. 5, p. 12864, 2015. Citado 3 vezes nas páginas 16, 18 e 22.

MENESES, P. R.; ALMEIDA, T. d. et al. Introdução ao processamento de imagens de sensoriamento remoto. *Universidade de Brasília, Brasília,* 2012. Citado na página 30.

MONTAN, J. dos S.; PINTO, M. C. Avaliação de plataformas híbridas para desenvolvimento de aplicações para dispositivos móveis. *Seminários de Trabalho de Conclusão de Curso do Bacharelado em Sistemas de Informação*, v. 2, n. 1, 2018. Citado na página 34.

MONTEIRO, J. I.; MUKHERJI, S.; KUNDU, T. Development of a low-cost portable surface plasmon resonance biosensor. In: IEEE. 2013 Annual International Conference on Emerging Research Areas and 2013 International Conference on Microelectronics, Communications and Renewable Energy. [S.I.], 2013. p. 1–5. Citado na página 24.

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*, v. 1, n. 1, p. 1479 – 1482, 2009. ISSN 1876-6196. Proceedings of the Eurosensors XXIII conference. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876619609003702>. Citado 3 vezes nas páginas 27, 36 e 62.

OLIVEIRA, L. C.; LIMA, A. M. N.; CARSTEN, T.; NEFF, H. F. a. Surface Plasmon Resonance Sensors: A Materials Guide to Design and Optimization. 2. ed. [S.I.]: Springer International Publishing, 2019. (SpringerBriefs in Physics). ISBN 978-3-030-17486-6, 978-3-030-17485-9. Citado 10 vezes nas páginas 16, 24, 26, 27, 28, 29, 36, 37, 38 e 41.

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. Citado 2 vezes nas páginas 24 e 25.

PEREIRA, E. G.; OLIVEIRA, L. C.; MORAIS, M. R. A.; Lima, A. M. N.; NEFF, H. Improved data extraction algorithm for biosensors utilizing surface plasmon resonance sensing. In: 2014 IEEE International Instrumentation and Measurement Technology Conference (I2MTC) Proceedings. [S.l.: s.n.], 2014. p. 1105–1110. ISSN 1091-5281. Citado na página 27.

PREECHABURANA, P.; GONZALEZ, M. C.; SUSKA, A.; FILIPPINI, D. Surface plasmon resonance chemical sensing on cell phones. *Angewandte Chemie International Edition*, v. 51, n. 46, p. 11585–11588, 2012. Disponível em: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/anie.201206804>. Citado 3 vezes nas páginas 20, 21 e 22.

PRESSMAN, R. S.; MAXIM, B. Engenharia De Software: Uma Abordagem Profissional. [S.l.]: Pearson Brasil, 2012. ISBN 9788580555332. Citado na página 34.

RUGGIERO, M. A.; LOPES, L. R. *Cálculo Numérico: aspectos teóricos e computacionais.* 2. ed. São Paulo: Pearson Makron Books, 1996. ISBN 9788534602044. Citado na página 28.

SIN, M. L.; MACH, K. E.; WONG, P. K.; LIAO, J. C. Advances and challenges in biosensor-based diagnosis of infectious diseases. *Expert review of molecular diagnostics*, Taylor & Francis, v. 14, n. 2, p. 225–244, 2014. Citado na página 13.

SOMMERVILLE, I. *Engenharia de Software*. 9. ed. São Paulo - SP: Pearson Brasil, 2011. ISBN 9788579361081. Citado na página 33.

TANG, Y.; ZENG, X.; LIANG, J. Surface plasmon resonance: an introduction to a surface spectroscopy technique. *Journal of chemical education*, ACS Publications, v. 87, n. 7, p. 742–746, 2010. Citado na página 25.

TAVARES, G. A. et al. Implantação de uma estação de produção de água desionizada para uso nos laboratórios do cena/usp empregando resinas de troca-iônica. *Analytica, São Paulo*, n. 10, p. 36–42, 2004. Citado na página 63.

THIRSTRUP, C.; ZONG, W. Data analysis for surface plasmon resonance sensors using dynamic baseline algorithm. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 106, n. 2, p. 796 – 802, 2005. ISSN 0925-4005. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400504006501). Citado na página 28.

THIRSTRUP, C.; ZONG, W.; BORRE, M.; NEFF, H.; PEDERSEN, H.; HOLZHUETER, G. Diffractive optical coupling element for surface plasmon resonance sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 100, n. 3, p. 298 – 308, 2004. ISSN 0925-4005. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400504000279>. Citado 3 vezes nas páginas 36, 37 e 58.

WANG, L.-J.; CHANG, Y.-C.; SUN, R.; LI, L. A multichannel smartphone optical biosensor for high-throughput point-of-care diagnostics. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 87, p. 686 – 692, 2017. ISSN 0956-5663. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566316308983. Citado na página 13.

WANG, Z.; DIAMOND, J.; HOU, R.; WANG, K.; SONG, L.; SU, Y.; ZHENG, Z.; ZHU, J. An accurate and precise polynomial model of angular interrogation surface plasmon resonance data. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 151, n. 2, p. 309 – 319, 2011. ISSN 0925-4005. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400510001760>. Citado na página 28.

WILSON, D.; FERGUSON, B. Optimization of surface plasmon resonance for environmental monitoring. In: IEEE. *SENSORS*, 2010 IEEE. [S.l.], 2010. p. 1100–1103. Citado na página 13.

ZERAIK, A. E.; SOUZA, F. S. d.; FATIBELLO-FILHO, O.; LEITE, O. D. Desenvolvimento de um spot test para o monitoramento da atividade da peroxidase em um procedimento de purificação. *Química Nova*, SciELO Brasil, v. 31, n. 4, p. 731–734, 2008. Citado na página 63.

ZHAN, S.; WANG, X.; LIU, Y. Fast centroid algorithm for determining the surface plasmon resonance angle using the fixed-boundary method. *Measurement Science and Technology*, IOP Publishing, v. 22, n. 2, p. 025201, 2010. Citado na página 28.

Zhaoxin Geng; Qing Li; Wei Wang; Zhihong Li. Theoretical analysis and fabrication of pdms-based surface plasmon resonance sensor chips. In: 2009 4th IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems. [S.l.: s.n.], 2009. p. 51–54. Citado na página 26.

APÊNDICE A – QUESTIONÁRIO DE ESPECIFICAÇÃO DE *SOFTWARE*
Questionário de avaliação do MobileSPR App, respondido por especialistas

O **MobileSPR** App é um aplicativo para controle, processamento e exibição de dados de um sensor SPR que analisa soluções aquosas. Está sendo desenvolvido no Programa de Pós-graduação em Ciência da Computação da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, PPgCC-UFERSA, Mossoró-RN, Brasil.

O responsável pela pesquisa é estudante Elizeu Sandro da Silva, sob orientação dos professores Dr. Leiva Casemiro e Dr. Leandro de Souza, do Departamento de Computação - UFERSA.

Obrigado por sua ajuda! Estas informações servirão para consecução do APP.

Para preenchimento do questionário abaixo, visualize o APP nesse *link* (<u>https://goo.gl/bExZ1g</u>).

Nome:

E-mail:

Experiência com SPR?

- (a) Até 1 ano
- (b) Entre 1 e 5 anos
- (c) Mais de 5 anos

O MobileSPR App contém as funcionalidades gráficas essenciais para a análise de ocorrência do fenômeno SPR?

- (a) Sim, através desse modelo é possível observar e analisar o fenômeno.
- (b) Não, o protótipo não dispõe de funcionalidades importantes, tais como ...

Com base nos métodos de suavização por média e mediana presentes no aplicativo, você julga que:

- (a) São suficientes para o pré-processamento dos dados a serem exibidos.
- (b) Não são suficientes para o pré-processamento dos dados, faz-se essencial a presença de outro método de tratamento de dados.

Com base nos métodos de captura de valor mínimo apresentados no aplicativo, você julga-os:

- (a) Sim, são suficientes para o a amostragem e análise dos dados.
- (b) Não são suficientes para a amostragem e análise dos dados, faz-se essencial a presença de outro método de captura de mínimo.

A funcionalidade de posicionamento do campo emissor de luz proporciona ao usuário realizar a ação de forma efetiva?

- (a) Sim
- (b) Não

A combinação das cores utilizadas auxilia na melhor visualização dos demais componentes gráficos do sistema?

- (a) Sim
- (b) Não

Com base no modelo atual, você acredita que o gráfico da guia SPR deve mostrar:

- (a) Valores da curva SPR
- (b) Valores de referência
- (c) Valores atuais
- (d) Todas as alternativas

Na guia de Sensograma, os dados para os valores de θ -mínimo, assimetria e largura são suficientes?

- (a) Sim
- (b) Não

Os valores dos gráficos estão dispostos em tamanhos de fácil visualização?

- (a) Sim, estão visíveis
- (b) Não, devem ser maiores

Sobre os botões do modo avançado, você considera-os:

- (a) Adequados, ao alcance dos usuários
- (b) Inadequados, de difícil acesso

Como você avalia a facilidade em entender as funções do MobileSPR App?

Muito Fácil OOOO Muito Difícil

Como você avalia a facilidade em memorizar cada funcionalidade?

Muito Fácil

Considerando os componentes gráficos do aplicativo: em duas seções de manuseio do aplicativo em dois dias distintos, como você avalia a dificuldade em entender e encontrar as funcionalidades do sistema?

Muito Fácil

Quanto ao contexto de funcionamento do MobileSPR App, o sistema consegue ser claro quanto o que está sendo executado e exibido?

- (a) Sim
- (b) Não

APÊNDICE B – RESUMO DAS RESPOSTAS DA VALIDAÇÃO DOS ESPECIALISTAS

RESUMO GRÁFICO DAS RESPOSTASDO FORMULÁRIO SUBMETIDOS PARA ESPECIALISTAS DA ÁREA PARA A VALIDAÇÃO DO MOBILESPR APP.



Q1. O MobileSPR App contém as funcionalidades gráficas essenciais para a análise de ocorrência do fenômeno SPR?

5 respostas



Q2. Com base nos métodos de suavização por média e mediana presentes no aplicativo, você julga que:

5 respostas



- São suficientes para o préprocessamento dos dados a serem exibidos.
- Não são suficientes para o préprocessamenro dos dados, faz-se essencial a presença de outro método de tratamento de dados.

Q3. Com base nos métodos de captura de valor mínimo apresentados no aplicativo, você julga-os: 5 respostas



Q4. A funcionalidade de posicionamento do campo emissor de luz proporciona ao usuário realizar a ação de forma efetiva?

5 respostas



Q5. A combinação das cores utilizadas auxiliam na melhor visualização dos demais componentes gráficos do sistema?

5 respostas



Q6. Com base no modelo atual, você acredita que o gráfico da guia SPR deve mostrar ⁵ respostas



Q7. Na guia de Sensograma, os dados para os valores de θ -mínimo, assimetria e largura são suficientes?

5 respostas



Q8. Os valores dos gráficos estão dispostos em tamanhos de fácil visualização? 5 respostas



Q9. Sobre os botões do modo avançado, você considera-os ⁵ respostas







Q11. Como você avalia a facilidade em memorizar cada funcionalidade? 5 respostas



Q12. Considerando os componentes gráficos do aplicativo: em duas seções de manuseio do aplicativo em dois dias distintos, como você avali...ntender e encontrar as funcionalidade do sistema? ⁵ respostas







APÊNDICE C – CONFIGURAÇÕES DE IMPRESSÃO DA IMPRESSORA 3D *CLIEVER EDUCATIONAL*

APÊNDICE C. CONFIGURAÇÕES DE IMPRESSÃO DA IMPRESSORA 3D CLIEVER EDUCATIONAL

Retraction Distance	8 mm
Retraction Speed	70 mm/s
Retraction Retract Speed	70 mm/s
Retraction Prime Speed	70 mm/s
Retraction Extra Prime Amount	0 mm ³
Retraction Minimum Travel	08 mm
Maximum Retraction Count	100
Minimum Extrusion Distance Window	7 mm
Combing Mode	All
Max Comb Distance With No Retract	0
Retract Before Outer Wall	Checked
Avoid Printed Parts When	Checked
Avoid Supports When	
Travel Avoid Distance	0.625 mm