

# Construção e caracterização de sensores SPR: influência da camada metálica e do substrato dielétrico

Leiva Casemiro Oliveira

Tese de Doutorado apresentada à Coordenadoria do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Universidade Federal de Campina Grande - Campus de Campina Grande como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Doutor em Ciências no Domínio da Engenharia Elétrica.

Área de Concentração: Processamento da Informação

Antonio Marcus Nogueira Lima, Dr.

Helmut Franz Neff, Dr.

Orientador (es)

Campina Grande, Paraíba, Brasil

©Leiva Casemiro Oliveira, Abril de 2016

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL DA UFCG

- O48c Oliveira, Leiva Casemiro.  
Construção e caracterização de sensores SPR : influência da camada metálica e do substrato dielétrico / Leiva Casemiro Oliveira. – Campina Grande, 2016.  
127 f. : il. color.
- Tese (Doutorado em Engenharia Elétrica) - Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Engenharia Elétrica e Informática, 2016.  
"Orientação: Prof. Dr. Antonio Marcus Nogueira Lima, Prof. Dr. Helmut Franz Neff".  
Referências.
1. Ressonância de Plasmon de Superfície – Engenharia Elétrica.
  2. Sensores Ópticos. 3. Biossensores. 4. Biochip. 5. Sensor SPR.
- I. Lima, Antonio Marcus Nogueira. II. Neff, Helmut Franz. III. Título.

CDU 621.3:533.951(043)

**"CONSTRUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE SENSORES SPR: INFLUENCIA DA CAMADA METÁLICA E DO SUBSTRATO DIELÉTRICO"**

**LEIVA CASEMIRO OLIVEIRA**

**TESE APROVADA EM 01/04/2016**



**ANTONIO MARCUS NOGUEIRA LIMA, Dr., UFCG**  
**Orientador(a)**



**FRANZ HELMUT NEFF, Dr, UFCG**  
**Orientador(a)**



**ALEXANDRE JEAN RENÉ SERRES, Dr., UFCG**  
**Examinador(a)**



**ELITON SOUTO DE MEDEIROS, Dr., UFPB**  
**Examinador(a)**

*via Skype*

**CARLOS AVELINO DE JESUS GOUVEIA, Dr., VISITANTE UFCG**  
**Examinador(a)**



**ELMAR UWE KURT MELCHER, Dr., UFCG**  
**Examinador(a)**

**CAMPINA GRANDE - PB**

# Agradecimentos

Primeiro de tudo, gostaria de agradecer ao meu orientador professor Dr. Franz Helmut Neff, pela orientação, participação e pelos encaminhamentos efetivos ao término e à apresentação final deste trabalho. Quando comecei a trabalhar no laboratório de biossensores não imaginava a quanto de experiência e conhecimento poderia adquirir. Com a orientação de Helmut, comecei a aprender sobre o mundo da SPR e rapidamente fiquei fascinado. Serei sempre grato pelo entusiasmo e perspectiva positiva que Helmut dava ao trabalho mesmo diante de contratempos ocorridos durante o desenvolvimento do sensor.

Um agradecimento especial ao também orientador professor Dr. Antonio Marcus Nogueira Lima, pela orientação, participação e sustentação acadêmica ao longo deste período. O prof. Antonio Marcus contribui e guiou os trabalhos para o desenvolvimento do sensor, sempre buscando qualidade e excelência nos resultados. Antonio Marcus ajudou bastante para que eu melhorasse a redação e a apresentação de trabalhos científicos.

A construção do sensor não seria possível sem a colaboração do colega Dr. Cleumar Moreira da Silva. Obrigado pelas infindáveis discussões e pela elaboração conjunta dos prismas poliméricos aqui tratados.

Talvez eu não tivesse conhecido o mundo da SPR se não fosse a professora Dra. Fernanda Cecília. Fernanda obrigado pela confiança em ter me convidado para trabalhar no laboratório de biossensores.

Aos colegas do Laboratório de Biossensores (eBIO), particularmente me dirijo ao Dr. Arlindo Garcia, Luis Hermano, Tiago de Sousa e Eduardo Gomes Pereira pelas conversas, pelas contribuições imprescindíveis quando do processo de construção e caracterização dos prismas e das técnicas para extração dos parâmetros da curva SPR.

Agradeço aos meus pais Wilma Casemiro Oliveira e Manoel Vieira de Oliveira por sempre estarem presentes, acreditando no meu potencial e investindo nos meus estudos... um beijo.

Um agradecimento especial a minha noiva Nívia Bitú Saraiva por estar sempre presente mesmo na distância. Por seu apoio incondicional sempre serei grato.

Enfim a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para consecução deste trabalho. Serei sempre grato.

# Resumo

Sensores baseados na ressonância de plasmons de superfície (SPR) foram construídos, explorando diferentes materiais para compor o arranjo multicamadas do tipo substrato/metal/amostra. A definição do arranjo multicamadas de um sensor SPR é fundamental pois determina as condições para a construção do sensor, definindo os blocos funcionais que o compõem além de ser responsável pela transdução da interação molecular. O arranjo multicamadas determina o ângulo de incidência e o comprimento de onda da luz utilizada para excitação dos plasmons na interface entre o metal e substância em análise (amostra). Averiguou-se a qualidade da excitação dos plasmons de superfície em filmes finos metálicos, variando os materiais dos pares substrato/metal do arranjo multicamadas com estrutura de Kretschmann. A caracterização da resposta do sensor foi realizada usando o prisma óptico PPBIO, por sua estrutura trapezoidal que facilita a instrumentação ao evitar o uso de partes móveis e/ou rotacionais. Prismas com os polímeros PC, PMMA, TOPAS e com o vidro BK7 foram manufacturados. Os metais ouro (Au), prata (Ag), cobre (Cu) e alumínio (Al) foram depositados nas superfícies de cada um dos prismas. Aspectos sobre a confecção dos prismas, deposição da camada metálica, montagem dos componentes e do software para processamento da resposta do sensor foram apresentados. Experimentos com ligações reversíveis e irreversíveis no modo de interrogação angular e no modo de interrogação de comprimento de onda foram realizados. Os resultados mostram que o arranjo composto do par PC/Al não exibe boa resposta. Os arranjos com Ag e Cu formam facilmente camadas de oxidação. A adsorção de proteína é mais acentuada em filmes de Au, moderada em filmes de Ag e fraca/inexistente em filmes de Cu e Al. Os resultados obtidos atestam a viabilidade da excitação dos plasmons de superfície em sensores SPR a base do PPBIO, com limite de detecção de índice de refração na ordem de  $1 \times 10^{-6}$  RIU.

# Abstract

A sensor based on surface plasmon resonance (SPR) was developed, exploring different materials to built the substrate/metal/sample multilayer arrangement type. The multilayer arrangement definition of a SPR sensor is crucial because it determines the conditions for sensor construction by setting its functional blocks, besides being responsible for the molecular interaction transduction to be detected, and defines the incidence angle and wavelength of the light used for plasmons excitation at the metal and analyte interface. The quality of surface plasmons excitation in thin metal films was investigated by changing the materials of substrate/metal pairs of the multilayer arrangement with Kretschmann structure. The sensor response characterization was performed using the optical prism PPBIO due it's trapezoid structure that facilitates instrumentation, avoiding mobile and/or rotational parts. Prisms with PC, PMMA and TOPAS polymers and glass BK7 were manufactured. The metals gold (Au), silver (Ag), copper (Cu) and aluminum (Al) were deposited on the top surfaces of the prisms. The prisms manufacture aspects, the metal layer deposition, the assembly of components in the experimental set-up and details about the software which processes the sensor response are presented. Experiments with reversible and irreversible linkage in both angular and wavelength interrogation mode were performed. The results show that the arrangement composed of PC/Al pair does not possess good response. Arrangements with Ag and Cu easily form oxide layers. Protein adsorption is more pronounced in Au films, moderate in Ag films and weak/absent in Cu and Al film. Moreover the results attest the feasibility of the surface plasmons excitation in PPBIO based SPR sensors, with  $1 \times 10^{-6}$  RIU on the order of refractive index limit of detection.

# Sumário

<b>1</b>	<b>Introdução</b>	<b>1</b>
1.1	Objetivos e metodologia . . . . .	5
1.2	Estrutura do documento . . . . .	7
<b>2</b>	<b>Fundamentação Teórica para sensores SPR</b>	<b>8</b>
2.1	Condições para excitação dos plasmons de superfície . . . . .	9
2.1.1	Dispersão dos plasmons de superfície . . . . .	13
2.2	Análise de Fresnel . . . . .	14
2.2.1	Sensor SPR como refratômetro . . . . .	15
2.3	Resumo . . . . .	17
<b>3</b>	<b>Projeto do transdutor SPR</b>	<b>18</b>
3.1	Metodologia do PPBIO: ramo óptico . . . . .	18
3.2	Resposta SPR . . . . .	29
3.2.1	Filmes finos de Alumínio . . . . .	35
3.2.2	Filmes finos de Ouro . . . . .	40
3.2.3	Filmes finos de Cobre . . . . .	44
3.2.4	Filmes finos de Prata . . . . .	48
3.3	Detectividade . . . . .	53
3.4	Resumo . . . . .	55
<b>4</b>	<b>Construção do sensor SPR</b>	<b>57</b>
4.1	Fabricação do PPBIO . . . . .	57
4.1.1	Moldagem por injeção do PPBIO . . . . .	57

4.1.2	Recozimento do PPBIO . . . . .	59
4.1.3	Polimento do PPBIO . . . . .	65
4.2	Deposição do metal . . . . .	65
4.3	Montagem experimental . . . . .	68
4.4	Resumo . . . . .	72
<b>5</b>	<b>Caracterização do sensor SPR</b>	<b>73</b>
5.1	Protocolo experimental . . . . .	77
5.2	Resultados experimentais: curvas SPRs . . . . .	78
5.3	Resultados experimentais: sensorgramas . . . . .	82
5.4	Resumo . . . . .	103
<b>6</b>	<b>Conclusão e trabalhos futuros</b>	<b>104</b>
6.1	Trabalhos futuros . . . . .	107
<b>A</b>	<b>Fabricação do PPBIO</b>	<b>110</b>
<b>B</b>	<b>Deposição de filmes finos</b>	<b>115</b>
<b>C</b>	<b>Caracterização de filmes finos</b>	<b>118</b>
	<b>Referências Bibliográficas</b>	<b>121</b>

# Lista de Símbolos e Abreviaturas

*ABS* Acrilonitrila Butadieno Estireno (impressora 3D)

*D.A.* Aproximação de Drude

*DF* Distância focal

*DP* Densidade de pixel

*AF* Análise de Fresnel

*AFM* Microscópio de força-atômica

*AIM* Modo de Interrogação Angular

*ATR* Attenuated Total Reflection

*BSA* Bovine Serum Albumin (proteína)

*CCD* Charge-Coupled Device

*CDF* Função Dielétrica Complexa

*CI* Caminho Inclinado

*CMOS* Complementary Metal-Oxide Semiconductor

*COC* Cyclic-Olefin Copolymer (polímero TOPAS)

*CVD* deposição de vapor químico

*DNA* Ácido desoxirribonucleico

*EBR* Abertura do Feixe de Luz

*ECS* Equal Coupling Strength

*FoV* Campo de Visão do PPBIO (Field Of View)

*FWHM* Largura da curva SPR (Full Width at Half Maximum)

*LED* Diodo emissor de luz (Light Emitting Diode)

*LSPR* Localized Surface Plasmon Resonance

*LRSP* Long-Range Surface Plasmon Polariton

*NP* Nano-Partícula

*OP* Ponto de Operação

*PBS* Phosphate Buffered Saline (analito)

*PC* Policarbonato (polímero)

*PMMA* Polimetil-metacrilato (polímero)

*PPBIO* Prisma Polimérico para aplicações BIOLógicas

*PVD* Deposição de vapor físico

*RIT* Reflexão Interna Total

*RIU* Refractive Index Unit

*RIV* Região do Infra-Vermelho

*RPP* Região dos plasmons radiativos

*SEM* Microscópio eletrônico de varredura

*SP* Surface Plasmon

*SPP* Surface Plasmon Polariton

- SPR* Surface Plasmon Resonance
- TOPAS* Thermoplastic Olefin-polymer of Amorphous Structure
- TM* Transverso-Magnético
- UACPE* Unidade de Aquisição, Controle, Processamento e Exibição
- WIM* Modo de Interrogação Espectral
- $k_p$  Vetor de onda da luz incidente
- $k_{px}$  Componente horizontal do vetor de onda da luz incidente
- $k_{sp}$  Vetor de onda dos plamons de superfície
- $k_e$  Vetor de onda dos elétrons-livres
- $d_i$  Espessura do meio  $i$  do arranjo multicamadas
- $r(\lambda)$  Coeficiente de refletividade de Fresnel - WIM
- $r(\theta)$  Coeficiente de refletividade de Fresnel - AIM
- $\theta_{res}$  ou  $\theta_R$  Ângulo plasmônico ou ângulo de ressonância
- $\lambda_{res}$  ou  $\lambda_R$  Comprimento de onda plasmônico ou comprimento de onda de ressonância
- $n_i$  Índice de Refração do meio  $i$  do arranjo multicamadas
- $\epsilon_i$  Permissividade (ou CDF) do meio  $i$  do arranjo multicamadas
- $S_\theta$  Sensibilidade do sensor SPR operando no modo AIM
- $S_\lambda$  Sensibilidade do sensor SPR operando no modo WIM
- $D_\theta$  Detectividade do sensor SPR operando no modo AIM
- $D_\lambda$  Detectividade do sensor SPR operando no modo WIM

# Lista de Tabelas

Tabela 3.1:	Magnitude de $\langle v_\theta \rangle$ para $\langle v_\lambda \rangle = 0.1$ nm. . . . .	54
Tabela 3.2:	Resumos dos valores de $\lambda_R$ e $\theta_R$ indicando o OP de cada par substrato/metal. . . . .	56
Tabela 5.1:	Valores de $\lambda_R$ , $\theta_R$ , $\Delta n_3$ , $S_\lambda$ , $S_\theta$ , $D_\lambda$ , $D_\theta$ e Resolução Instrumental para o par BK7/Ag nos modos WIM e AIM. . . . .	84
Tabela 5.2:	Valores de $\lambda_R$ , $\theta_R$ , $\Delta n_3$ , $S_\lambda$ , $S_\theta$ , $D_\lambda$ , $D_\theta$ e Resolução Instrumental para o par TOPAS/Ag nos modos WIM e AIM. . . . .	86
Tabela 5.3:	Valores de $\lambda_R$ , $\theta_R$ , $\Delta n_3$ , $S_\lambda$ , $S_\theta$ , $D_\lambda$ , $D_\theta$ e Resolução Instrumental para o par PMMA/Ag nos modos WIM e AIM. . . . .	87
Tabela 5.4:	Valores de $\lambda_R$ , $\theta_R$ , $\Delta n_3$ , $S_\lambda$ , $S_\theta$ , $D_\lambda$ , $D_\theta$ e Resolução Instrumental para o par PC/Ag nos modos WIM e AIM. . . . .	88
Tabela 5.5:	Valores de $\lambda_R$ , $\theta_R$ , $\Delta n_3$ , $S_\lambda$ , $S_\theta$ , $D_\lambda$ , $D_\theta$ e Resolução Instrumental para o par BK7/Au nos modos WIM e AIM. . . . .	90
Tabela 5.6:	Valores de $\lambda_R$ , $\theta_R$ , $\Delta n_3$ , $S_\lambda$ , $S_\theta$ , $D_\lambda$ , $D_\theta$ e Resolução Instrumental para o par TOPAS/Au nos modos WIM e AIM. . . . .	91
Tabela 5.7:	Valores de $\lambda_R$ , $\theta_R$ , $\Delta n_3$ , $S_\lambda$ , $S_\theta$ , $D_\lambda$ , $D_\theta$ e Resolução Instrumental para o par PMMA/Au nos modos WIM e AIM. . . . .	92
Tabela 5.8:	Valores de $\lambda_R$ , $\theta_R$ , $\Delta n_3$ , $S_\lambda$ , $S_\theta$ , $D_\lambda$ , $D_\theta$ e Resolução Instrumental para o par PC/Au nos modos WIM e AIM. . . . .	93
Tabela 5.9:	Valores de $\lambda_R$ , $\theta_R$ , $\Delta n_3$ , $S_\lambda$ , $S_\theta$ , $D_\lambda$ , $D_\theta$ e Resolução Instrumental para o par BK7/Cu nos modos WIM e AIM. . . . .	95
Tabela 5.10:	Valores de $\lambda_R$ , $\theta_R$ , $\Delta n_3$ , $S_\lambda$ , $S_\theta$ , $D_\lambda$ , $D_\theta$ e Resolução Instrumental para o par TOPAS/Cu nos modos WIM e AIM. . . . .	96

Tabela 5.11: Valores de $\lambda_R$ , $\theta_R$ , $\Delta n_3$ , $S_\lambda$ , $S_\theta$ , $D_\lambda$ , $D_\theta$ e Resolução Instrumental para o par PMMA/Cu nos modos WIM e AIM. . . . .	97
Tabela 5.12: Valores de $\lambda_R$ , $\theta_R$ , $\Delta n_3$ , $S_\lambda$ , $S_\theta$ , $D_\lambda$ , $D_\theta$ e Resolução Instrumental para o par PC/Cu nos modos WIM e AIM. . . . .	98
Tabela 5.13: Valores de $\lambda_R$ , $\theta_R$ , $\Delta n_3$ , $S_\lambda$ , $S_\theta$ , $D_\lambda$ , $D_\theta$ e Resolução Instrumental para o par BK7/Al nos modos WIM e AIM. . . . .	100
Tabela 5.14: Valores de $\lambda_R$ , $\theta_R$ , $\Delta n_3$ , $S_\lambda$ , $S_\theta$ , $D_\lambda$ , $D_\theta$ e Resolução Instrumental para o par TOPAS/Al nos modos WIM e AIM. . . . .	101
Tabela 5.15: Valores de $\lambda_R$ , $\theta_R$ , $\Delta n_3$ , $S_\lambda$ , $S_\theta$ , $D_\lambda$ , $D_\theta$ e Resolução Instrumental para o par PMMA/Al nos modos WIM e AIM. . . . .	102
Tabela 5.16: Valores de $\lambda_R$ , $\Delta n_3$ , $S_\lambda$ , $D_\lambda$ e Resolução Instrumental para o par PC/Al no modo WIM. . . . .	103
Tabela A.1: Propriedades de injeção dos polímeros utilizados. . . . .	111
Tabela A.2: Quadro comparativo de propriedades dos polímeros utilizados . . . . .	111

# Lista de Figuras

Figura 1.1: Esquema indicando os elementos necessários para um sensor SPR com configuração ATR-Kretschmann. No exemplo, emprega-se um prisma semi-cilíndrico sobre o qual um substrato óptico fino com uma fina camada de metal depositada é acoplado com o uso de um gel. A luz incidente, após interagir com os vários materiais, é capturada por um componente fotossensível (sensor de imagem). Estão indicados na figura o campo evanescente ( $E_{ev.}$ ) e os vetores de onda da luz incidente ( $k_{px}$ ) e dos SPs ( $k_{SP}$ ). . . . . 5

Figura 2.1: Sistema multicamadas na configuração de Kretschmann com 4 camadas em que (1) é o substrato óptico-prisma, (2) metal, (3) e (4) representam o analito e a amostra que o contém. A célula de fluxo conduz a amostra por sobre a superfície do metal. Espessuras, vetores, permissividades dielétricas, ângulos e plano de incidência indicados na figura. . . . . 10

Figura 2.2: Dispersão dos SP ( $E(k_{SP})$ ) em uma interface metal-H<sub>2</sub>O, com indicação das regiões SPP, QB e RPP. Dispersão dos fótons ( $E(k_{px})$ ) com ângulo de incidência de 75°, no vácuo e em substrato de safira. A interseção das curvas (acoplamento óptico) representa a situação em que ocorre a ressonância. . . . . 13

Figura 2.3: Exemplo de curva para a SPR obtida através da Análise de Fresnel. A variação de  $\lambda_{R1}$  para  $\lambda_{R2}$  no modo WIM, ou de  $\theta_{R1}$  para  $\theta_{R2}$  no modo AIM, indica uma alteração no índice de refração da amostra. . . . . 16

Figura 3.1:	Etapas da metodologia para construção do sensor SPR utilizando o PP-BIO. Após a manufatura do prisma as escolhas feitas em cada etapa são avaliadas e a análise de sensibilidade verifica a qualidade final do sensor.	19
Figura 3.2:	Prisma polimérico desenvolvido por Moreira. Os valores utilizados no projeto foram: $h = 3$ mm, $L = 26,72$ mm, $l = 17,84$ mm, $\alpha = 34^\circ$ , $\theta = 68^\circ$ com foco ocorrendo no ponto A(10,2,9) mm. Fonte [20].	20
Figura 3.3:	Condicionantes operacionais para a lente cilíndrica utilizada para focalizar os feixes luminosos. Os valores utilizados no projeto foram: $T = 5$ mm, $R = 11,2$ mm, $J = 3,9$ mm e $EBR = 0,5$ mm. A distância focal ( $f$ ) da lente utilizada é de 20 mm para $\lambda = 587,6$ nm.	21
Figura 3.4:	Caminho óptico detalhado percorrido pelos feixes luminosos. Detalhe (em azul) para a distância percorrida ( $D$ ) da base inferior até atingir o ponto focal ( $X_4$ ). Os valores dos parâmetros representados na imagem são: $F = 5,36$ mm, $D_{X_2\_min} = 9,66$ mm, $D_{X_2\_max} = 12,62$ mm, $h' = 0,5 - 2,5$ mm. Para $L$ , $l$ , $\alpha$ e $\theta$ os valores são os mesmos apresentados na Figura 3.2.	22
Figura 3.5:	a) Representação gráfica da dispersão da luz dentro do PPBIO. Traçado de raios obitdos com o software OSLO Premiun para visualização geométrica do caminho da luz dentro do PPBIO e gerado com os parâmetros ópticos apresentados na Figura 3.3, os quais focalizam a luz no centro da superfície superior do prisma. Fonte [20]. b) Gráfico da variação da dispersão em função da posição de entrada para diferentes temperaturas.	23
Figura 3.6:	Gráficos da variação do ângulo de ressonância em função da posição de entrada para diferentes temperaturas.	23
Figura 3.7:	a) Variação da espessura do foco em função da posição de entrada para diferentes temperaturas b) Ilustração do comportamento do foco nos modos AIM e WIM com o aumento da temperatura (vista superior do prisma).	24

Figura 3.8:	Índice de refração em função do comprimento de onda para diferentes materiais usados como substrato dielétrico (TOPAS, PC, PMMA e BK7s). $n_{PC} > n_{TOPAS} > n_{BK7} > n_{PMMA}$ . . . . .	26
Figura 3.9:	Gráfico para o Fator Q expresso em termos relação da $\epsilon_{2r}(\lambda)^2/\epsilon_{2i}(\lambda)$ . Prata, ouro, cobre e alumínio exibem regimes de baixas perdas no espectro da luz visível. . . . .	27
Figura 3.10:	Dependência da função dielétrica do metal para o comprimento de onda. Observa-se diferença entre a CDF do Alumínio obtida por intermédio da D.A. (linhas tracejadas) e da CDF determinada experimentalmente (linhas sólidas). . . . .	28
Figura 3.11:	Curva SPR para diferentes valores de comprimento de onda e de ângulo. Interfaces a) Al/água e b) Cu/água. Acoplamento óptico para ângulos maiores que $60^\circ$ . Vistas: Refletividade x $\lambda$ (esquerda), Refletividade x $\lambda$ x Ângulo (direita) e Ângulo x $\lambda$ (subgráfico) . . . . .	30
Figura 3.12:	Curva SPR para diferentes valores de comprimento de onda e de ângulo. Interfaces a) Au/água e b) Ag/água. Acoplamento óptico para ângulos maiores que $60^\circ$ . Vistas: Refletividade x $\lambda$ (esquerda), Refletividade x $\lambda$ x Ângulo (direita) e Ângulo x $\lambda$ (subgráfico) . . . . .	31
Figura 3.13:	Sensibilidade espectral em função do ângulo de incidência. Subgráfico para a sensibilidade espectral em função do índice de refração para os diversos ângulos. Os valores foram calculados para o par BK7/Ag. . . . .	32
Figura 3.14:	Função dielétrica complexa do Al. Parte real e imaginária para diferentes representações. Ver-se que CDF experimental não é aproximada pela D.A. . . . .	35
Figura 3.15:	Variação da resposta SPR para diferentes representações da função dielétrica $\epsilon_2(\lambda)$ do alumínio. Curvas com e sem camada de oxidação. A resposta experimental é mais semelhante à curva representada por Rakic na presença de oxidação. Detalhe (subgráfico em verde) para o perfil espectral da fonte de luz. . . . .	36

Figura 3.16:	Curvas SPR no modo WIM para os substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Ângulos de incidência fixados em $58^\circ, 63^\circ, 68^\circ, 71^\circ$ e $75^\circ$ para faixa de comprimentos de onda de $400 \text{ nm} < \lambda < 1400 \text{ nm}$ . Resposta WIM para filmes de alumínio com espessura de 20 nm em contato com água deionizada e desgaseificada. . . . .	37
Figura 3.17:	Curvas SPR no modo AIM para os substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Gráficos para diferentes comprimentos de onda, indicados na figura, para faixa de ângulo de $50^\circ < \theta < 80^\circ$ . Resposta AIM para filmes de alumínio com 20 nm em contato com a água deionizada e desgaseificada.	37
Figura 3.18:	Curvas SPR no modo WIM para diferentes analitos no intervalo de $1,33 < n_3 < 1,39$ . Substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC com filmes de alumínio de 20 nm de espessura. Ângulo de incidência fixado em $68^\circ$ para faixa de comprimentos de onda de $400 \text{ nm} < \lambda < 1400 \text{ nm}$ .	38
Figura 3.19:	Parâmetros extraídos das curvas SPR no modo WIM para filmes de Al. a) Sensibilidade, b) Comprimento de onda de ressonância e c) largura da curva associada ao valor FWHM. . . . .	38
Figura 3.20:	Curvas SPR no modo AIM para diferentes analitos no intervalo de $1,33 < n_3 < 1,39$ . Curvas com os comprimentos de onda fixos nos valores encontrados na simulação WIM (Sw em cores e Lw em tons de cinza). Substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC com filmes de alumínio com espessura de 20 nm. . . . .	39
Figura 3.21:	Parâmetros extraídos das curvas SPR no modo AIM para filmes de Al. a) Sensibilidade, b) Ângulo de ressonância e c) largura da curva associada ao valor FWHM. . . . .	39
Figura 3.22:	Refletividade-WIM (gráficos superiores) e AIM (gráficos inferiores) para diferentes espessuras do filme de alumínio. Curvas SPRs para a multicamada composta por BK7/Al/analito, com as espessuras para os filmes metálicos de 1, 10, 20, 30 e 40 nm. . . . .	40
Figura 3.23:	Parte real e imaginária para diferentes representações da CDF do ouro. Nota-se que a CDF experimental é parcialmente aproximada pela D.A.	41

Figura 3.24:	Curvas SPR no modo WIM para os substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Ângulos de incidência fixados em $58^\circ, 63^\circ, 68^\circ, 71^\circ$ e $75^\circ$ para faixa de comprimentos de onda de $400 \text{ nm} < \lambda < 1400 \text{ nm}$ . Resposta WIM para filmes de ouro com espessura de 50 nm, em contato com água deionizada e desgaseificada. . . . .	41
Figura 3.25:	Curvas SPR no modo AIM para os substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Gráficos para diferentes comprimentos de onda, indicados na figura, para faixa de ângulo de $40^\circ < \theta < 80^\circ$ . Resposta AIM para filmes de ouro com 50 nm em contato com a água deionizada e desgaseificada. . . . .	42
Figura 3.26:	Curvas SPR no modo WIM para diferentes analitos no intervalo de $1,33 < n_3 < 1,39$ . Substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Ângulo de incidência fixado em $68^\circ$ para faixa de comprimentos de onda de $400 \text{ nm} < \lambda < 1400 \text{ nm}$ . O filme de ouro com espessura de 50 nm. . . . .	42
Figura 3.27:	Parâmetros extraídos das curvas SPR no modo WIM para filmes de Au. a) Sensibilidade, b) Comprimento de onda de ressonância e c) largura da curva associada ao valor FWHM. . . . .	43
Figura 3.28:	Curvas SPR no modo AIM para diferentes analitos no intervalo de $1,33 < n_3 < 1,39$ . Substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC com filmes de ouro de 50 nm de espessura. Curvas com os comprimentos de onda fixos nos valores encontrados na simulação WIM. . . . .	43
Figura 3.29:	Parâmetros extraídos das curvas SPR no modo AIM para filmes de Au. a) Sensibilidade, b) Ângulo de ressonância e c) largura da curva associada ao valor FWHM. . . . .	44
Figura 3.30:	Refletividade-WIM (gráficos superiores) e AIM (gráficos inferiores) para diferentes espessuras do filme de ouro. Curvas SPR para multicamada composta por BK7/Au/analito, com as espessuras para os filmes metálicos de 10, 30, 50, 70 e 90 nm. . . . .	44
Figura 3.31:	Função dielétrica complexa do Cu. Parte real e imaginária para diferentes representações. Observa-se que a CDF experimental é parcialmente aproximada pela D.A. . . . .	45

Figura 3.32:	Curvas SPR no modo WIM para os substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Ângulos de incidência fixados em $58^\circ, 63^\circ, 68^\circ, 71^\circ$ e $75^\circ$ para faixa de comprimentos de onda de $400 \text{ nm} < \lambda < 1400 \text{ nm}$ . Resposta WIM para filmes de cobre com espessura de 40 nm em contato com água deionizada e desgaseificada. . . . .	45
Figura 3.33:	Curvas SPR no modo AIM para os substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Gráficos para diferentes comprimentos de onda, indicados na figura, para faixa de ângulo de $40^\circ < \theta < 80^\circ$ . Resposta AIM para filmes de cobre com 40 nm em contato com a água deionizada e desgaseificada. . . . .	46
Figura 3.34:	Curvas SPR no modo WIM para diferentes analitos no intervalo de $1,33 < n_3 < 1,39$ . Substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC com filmes de cobre de 40 nm de espessura. Ângulo de incidência fixado em $68^\circ$ para faixa de comprimentos de onda de $400 \text{ nm} < \lambda < 1400 \text{ nm}$ . . . . .	46
Figura 3.35:	Parâmetros extraídos das curvas SPR no modo WIM para filmes de Cu. a) Sensibilidade, b) Comprimento de onda de ressonância e c) largura da curva associada ao valor FWHM. . . . .	47
Figura 3.36:	Curvas SPR no modo AIM para diferentes analitos no intervalo de $1,33 < n_3 < 1,39$ . Curvas com os comprimentos de onda fixos nos valores encontrados na simulação WIM. Substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC com filmes de cobre de 40 nm de espessura. . . . .	47
Figura 3.37:	Parâmetros extraídos das curvas SPR no modo AIM para filmes de Cu. a) Sensibilidade, b) Ângulo de ressonância e c) largura da curva associada ao valor FWHM. . . . .	48
Figura 3.38:	Refletividade-WIM (gráficos superiores) e AIM (gráficos inferiores) para diferentes espessuras do filme de cobre. Curvas SPRs para a multicamada composta por BK7/Cu/analito, com as espessuras dos filmes metálicos de 10, 30, 40, 50 e 70 nm. . . . .	48
Figura 3.39:	Função dielétrica complexa do Ag. Parte real e imaginária para diferentes representações. Ver-se que a CDF experimental é parcialmente aproximada pela D.A. . . . .	49

Figura 3.40:	Curvas SPR no modo WIM para os substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Ângulos de incidência fixados em $58^\circ, 63^\circ, 68^\circ, 71^\circ$ e $75^\circ$ para faixa de comprimentos de onda de $400 \text{ nm} < \lambda < 1400 \text{ nm}$ . Resposta WIM para filmes de prata com 50 nm em contato com água deionizada e desgaseificada. . . . .	49
Figura 3.41:	Curvas SPR no modo AIM para os substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Gráficos para diferentes comprimentos de onda, indicados na figura, para faixa de ângulo de $40^\circ < \theta < 80^\circ$ . Resposta AIM para filmes de prata com 50 nm em contato com a água deionizada e desgaseificada. . . . .	50
Figura 3.42:	Curvas SPR no modo WIM para diferentes analitos no intervalo de $1,33 < n_3 < 1,39$ . Substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC com filmes de prata de 50 nm de espessura. Ângulo de incidência fixado em $68^\circ$ para faixa de comprimentos de onda de $400 \text{ nm} < \lambda < 1400 \text{ nm}$ . Curvas para filmes de prata com espessuras de 50 nm. . . . .	51
Figura 3.43:	Parâmetros extraídos das curvas SPR no modo WIM para filmes de Ag. a) Sensibilidade, b) Comprimento de onda de ressonância e c) largura da curva associada ao valor FWHM. . . . .	51
Figura 3.44:	Curvas SPR no modo AIM para diferentes analitos no intervalo de $1,33 < n_3 < 1,39$ . Curvas para os comprimentos de onda fixos em 658 nm(BK7), 620 nm(TOPAS), 779 nm(PMMA) e 519 nm(PC) encontrados na simulação WIM, para filmes de prata com espessuras de 50 nm. . . . .	52
Figura 3.45:	Parâmetros extraídos das curvas SPR no modo AIM para filmes de Ag. a) Sensibilidade, b) Ângulo de ressonância e c) largura da curva associada ao valor FWHM. . . . .	52
Figura 3.46:	Refletividade-WIM (gráficos superiores) e AIM (gráficos inferiores) para diferentes espessuras do filme de prata. Curvas SPRs para a multicamada composta por BK7/Ag/analito, com as espessuras dos filmes metálicos de 10, 30, 40, 50 e 70 nm. . . . .	52
Figura 3.47:	Detectividade no modo WIM para diferentes interfaces substrato/metal. OP com ângulo fixo em $\theta = 68^\circ$ . . . . .	53

Figura 3.48:	Diagrama de óptica geométrica usado para o cálculo do Campo de Visão (FoV) do PPBIO. Esquema indicando distâncias, ângulos e elementos presentes no <i>set-up</i> AIM. Para o sensor SPR desenvolvido o valor de FoV é de 22,6°. . . . .	55
Figura 4.1:	Moldes produzidos para fabricação do PPBIO. a) Molde com 3 cavidades e b) Molde com 4 cavidades. . . . .	58
Figura 4.2:	Percentual de transmitância (transparência) para os prismas fabricados com PC, PMMA, TOPAS e BK7. Dados obtidos com o espectrofotômetro FENTO 800 XI. . . . .	59
Figura 4.3:	Esquema ilustrativo de uma luz polarizada atravessando um meio birrefringente e outro não birrefringente. As componentes extraordinária, mais lenta (raio <sub>E</sub> ), e ordinária, mais rápida (raio <sub>O</sub> ), estão indicadas. . .	60
Figura 4.4:	Esquema de um polariscópio. Atrás do prisma sob análise há uma luz não polarizada seguido de um polarizador e um plano de 1/4 de onda. À frente do prisma, outro polarizador (analisador) é utilizado para analisar a polarização e um sensor de imagem captura o valor da intensidade. . .	62
Figura 4.5:	a) Fotografia para prismas com [1]-[2]-[3] e sem [4]-[5]-[6] annealing, polidos [3]-[4] e não polidos [1]-[2]-[5]-[6], todos fabricados com TOPAS e usando o molde de 3 cavidades. b) Fotografia para prismas poliméricos fabricados com o molde de 4 cavidades e prisma de vidro BK7. Prismas que passam pelo processo de injeção [PC]-[PMMA]-[TOPAS] possuem stress enquanto o prisma vidro [BK7], fabricado de forma diferente, é ausente de stress. . . . .	63
Figura 4.6:	Curvas SPR para filme de prata depositado no substratos BK7, TOPAS, PMMA e PC. Curvas teóricas (linha tracejada) e experimentais (linha sólida). . . . .	64
Figura 4.7:	Curva SPR para prisma com (linha sólida preta) e sem (linha sólida vermelha) <i>annealing</i> , e curva SPR teórica (curva tracejada). A excitação dos SP para prisma sem <i>annealing</i> é ineficiente. Exemplo da excitação SP melhorada com o uso de <i>annealing</i> . . . . .	64

Figura 4.8:	a) Perfil espectral para a fonte de luz usada no modo WIM. A linha tracejada é a resposta obtida antes do polimento. b) Perfil da fonte de luz usada no modo AIM. A linha tracejada é a resposta obtida com prismas não polidos. . . . .	65
Figura 4.9:	Exemplos de prisma de PC após a deposição do metais a) Al, b) Ag, c) Cu e d) Au. . . . .	66
Figura 4.10:	Análise da superfície metálica de ouro, depositada em um prisma manufaturado com TOPAS. Imagens (2D e 3D) obtidas com um AFM para superfície de Au. Gráficos para distribuição de altura nos intervalos A-B e C-D. Resumo dos parâmetros e gráficos relativos à rugosidade da superfície extraídos com o software Gwyddion. . . . .	67
Figura 4.11:	a) Diagrama de blocos de biossensor baseado na ressonância de plasmons de superfície o qual compreende 4 subsistemas diferentes: Microfluídico, Óptico, Estrutura Multicamadas e UACPE. Disposição dos elementos que excitam o fenômeno SPR usando o PPBIO. Montagem para o b) modo de interrogação espectral e c) para o modo de interrogação angular. . . . .	68
Figura 4.12:	Fotografia da montagem experimental para os componentes do diagrama ilustrado na Fig.4.11, apresentando a disposição dos elementos que excitam o fenômeno SPR usando o PPBIO. a) Montagem para o modo de interrogação espectral, em que uma luz branca atravessa uma lente colimadora e um polarizador até atingir o prisma; a luz refletida na outra extremidade do prisma passa por uma fibra óptica até ser captura por um espectrômetro. b) Montagem para o modo de interrogação angular, com utilização de lente cilíndrica para focalização do espectro da fonte de luz quase monocromática; a luz refletida pelo PBBIO atingi um espelho antes de ser capturada por uma câmera empregada como detector óptico. . . . .	71
Figura 4.13:	Imagem de peça impressa em impressora 3D para encaixe do prisma e da fibra óptica na montagem para o modo de interrogação espectral. Peça de polímero ABS (Acrilonitrila Butadieno Estireno). . . . .	72

Figura 5.1:	Curvas SPRs teóricas e experimentais para filmes de <b>prata</b> com 50 nm de espessura, depositado nos substratos BK7, TOPAS, PMMA e PC nos modos WIM (os quatro gráficos superiores) e AIM (os quatro gráficos inferiores). . . . .	79
Figura 5.2:	Curvas SPRs teóricas e experimentais para filmes de <b>ouro</b> com 50 nm de espessura, depositado nos substratos BK7, TOPAS, PMMA e PC nos modos WIM (superior) e AIM (inferior). . . . .	79
Figura 5.3:	Curvas SPRs teóricas e experimentais para filmes de <b>cobre</b> com 40 nm de espessura, depositado nos substratos BK7, TOPAS, PMMA e PC nos modos WIM (superior) e AIM (inferior). . . . .	81
Figura 5.4:	Curvas SPRs teóricas e experimentais para filmes de <b>alumínio</b> com 20 nm de espessura, depositado nos substratos BK7, TOPAS, PMMA e PC nos modos WIM (superior) e AIM (inferior). . . . .	81
Figura 5.5:	Exemplo de um sensorgrama para o ciclo $H_2O \rightarrow BSA \rightarrow H_2O \rightarrow Hypo. \rightarrow H_2O$ . Destaque para as fases de um sensorgrama: linha base, adsorção, monolayer, dissociação, lavagem e regeneração. . . . .	83
Figura 5.6:	Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para $\theta_R$ (verde superior), $\Delta n_3(\theta_R)$ (verde inferior), $\lambda_R$ (azul superior) e $\Delta n_3(\lambda_R)$ (azul inferior) para filme de <b>prata</b> depositado no substrato <b>BK7</b> . Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com $H_2O$ , depois <i>Etanol</i> de alta-concentração, retorno para $H_2O$ , em seguida <i>Etanol</i> de baixa-concentração e retorno para $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com $H_2O$ , limpeza com <i>Etanol</i> e retorno para $H_2O$ . . . . .	84
Figura 5.7:	Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para $\theta_R$ (verde superior), $\Delta n_3(\theta_R)$ (verde inferior), $\lambda_R$ (azul superior) e $\Delta n_3(\lambda_R)$ (azul inferior) para filme de <b>prata</b> depositado no substrato <b>TOPAS</b> . . . . .	86

Figura 5.8: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **prata** depositado no substrato **PMMA**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Etanol* de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida *Etanol* de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Etanol* e retorno para  $H_2O$ . . . . . 87

Figura 5.9: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **prata** depositado no substrato **PC**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Etanol* de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida *Etanol* de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Etanol* e retorno para  $H_2O$ . . . . . 88

Figura 5.10: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **ouro** depositado no substratos **BK7**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Hypo.*, retorno para  $H_2O$ ; em seguida *PBS* e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Hypo* e retorno para  $H_2O$ . . . . . 90

Figura 5.11: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **ouro** depositado no substrato **TOPAS**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Hypo.*, retorno para  $H_2O$ ; em seguida *PBS* e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Hypo* e retorno para  $H_2O$ . . . . . 91

Figura 5.12: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **ouro** depositado no substrato **PMMA**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Hypo.*, retorno para  $H_2O$ ; em seguida *PBS* e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Hypo* e retorno para  $H_2O$ . . . . . 92

Figura 5.13: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **ouro** depositado no substrato **PC**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Hypo.*, retorno para  $H_2O$ ; em seguida *PBS* e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Hypo* e retorno para  $H_2O$ . . . . . 93

Figura 5.14: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **cobre** depositado no substrato **BK7**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Etanol* de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida *Etanol* de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Etanol* e retorno para  $H_2O$ . . . . . 95

Figura 5.15: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **cobre** depositado no substrato **TOPAS**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Etanol* de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida *Etanol* de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Etanol* e retorno para  $H_2O$ . . . . . 96

Figura 5.16: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **cobre** depositado no substrato **PMMA**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Etanol* de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida *Etanol* de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Etanol* e retorno para  $H_2O$ . . . . . 97

Figura 5.17: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **cobre** depositado no substrato **PC**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Etanol* de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida *Etanol* de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Etanol* e retorno para  $H_2O$ . . . . . 98

Figura 5.18: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **alumínio** depositado no substrato **BK7**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Etanol* de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida *Etanol* de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Etanol* e retorno para  $H_2O$ . . . . . 100

Figura 5.19: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **alumínio** depositado no substrato **TOPAS**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Etanol* de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida *Etanol* de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Etanol* e retorno para  $H_2O$ . . . . . 101

Figura 5.20:	Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para $\theta_R$ (verde superior), $\Delta n_3(\theta_R)$ (verde inferior), $\lambda_R$ (azul superior) e $\Delta n_3(\lambda_R)$ (azul inferior) para filme de <b>alumínio</b> depositado no substrato <b>PMMA</b> . Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com $H_2O$ , depois <i>Etanol</i> de alta-concentração, retorno para $H_2O$ , em seguida <i>Etanol</i> de baixa-concentração e retorno para $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com $H_2O$ , limpeza com <i>Etanol</i> e retorno para $H_2O$ . . . . .	102
Figura 5.21:	Sensorgrama no modo WIM (azul) para $\lambda_R$ (azul superior) e $\Delta n_3(\lambda_R)$ (azul inferior) para filme de <b>alumínio</b> depositado no substrato <b>PC</b> . Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. . . . .	103
Figura 6.1:	Classificação dos três modos de excitação (LSPR, SPR e LSPP) dos plasmons de superfície em função do valor de $S_\lambda$ e do comprimento de propagação dos SP. . . . .	105
Figura 6.2:	Geometria alternativa para PPBIO. . . . .	108
Figura 6.3:	Ilustração que exemplifica a alteração no padrão de deposição da camada metálica na superfície do PPBIO. . . . .	108
Figura A.1:	Estrutura de uma máquina de moldagem por injeção. Os valores representados na imagem para o TOPAS 5013 são: $T_F = 100^\circ\text{C}$ , $T_1 = 230 - 260^\circ\text{C}$ , $T_2 = 240 - 260^\circ\text{C}$ , $T_3 = 250 - 280^\circ\text{C}$ , $T_4 = 260 - 290^\circ\text{C}$ e $T_N = T_M = 240 - 300^\circ\text{C}$ . . . . .	110
Figura A.2:	Imagem tridimensional ilustrando todas as partes (placas, posição e demais itens) que compõem o molde. . . . .	112
Figura A.3:	Exemplo de curvas SPRs com (BK7-Ag-Etanol, BK7-Au e TOPAS-Au) e sem (BK7-Ag- $H_2O$ e TOPAS-Ag) excitação simultânea dos plasmons de superfície e dos plasmons-radiativos. Detalhe para as superfícies de prisma de BK7 (mais arranhões) e de TOPAS (menos arranhões). . . .	113

Figura A.4:	Resumo dos valores de sensibilidade e detectividade teóricos e experimentais para os modos AIM e WIM. . . . .	114
Figura B.1:	Esquema para um sistema de deposição por <i>magnetron sputtering</i> . . . . .	116
Figura B.2:	Curva de calibração da espessura do filme fino depositado no PPBIO usando os <i>magnetrons</i> AC e DC. O modo DC é mais eficiente do que o modo AC por depositar mais material em menos tempo. . . . .	116
Figura B.3:	Esquema para um sistema de deposição através da evaporação por feixe de elétrons ( <i>e-beam</i> ). . . . .	117
Figura C.1:	Configuração típica de um elipsômetro que utiliza a luz refletida da superfície do material e a mudança de polarização. Fonte [91] . . . . .	119
Figura C.2:	Esquema simplificado de um microscópio eletrônica de varredura (SEM). Comparação com o esquema de um microscópio óptico convencional. Componentes principais indicados na figura. Fonte [92]. . . . .	120
Figura C.3:	Esquema de um microscópio de força atômica (AFM). Os principais componentes estão indicados na figura. Fonte [93]. . . . .	120

# Capítulo 1

## Introdução

Sensores ópticos baseados na ressonância de plasmons de superfície (SPR - Surface Plasmon Resonance) - fenômeno óptico resultante da interação entre luz e elétrons - exploram as características de arranjos multicamadas de diferentes materiais para detectar interações moleculares, a exemplo da reação antígeno-anticorpo. No projeto de um sensor SPR é fundamental a especificação da estrutura e configuração da multicamada pois esta é responsável pela transdução da interação a ser detectada.

A especificação da multicamada determina as condições para a construção do sensor, definindo os blocos funcionais que compõem um sensor SPR tais como elementos ópticos, eletrônicos, mecânicos e fluídicos.

O arranjo multicamadas é usualmente construído a partir de finas camadas de materiais em escala nanométrica (filmes finos), formando uma interface metal/dielétrico. O filme metálico é depositado sobre um material opticamente transmissivo e o dielétrico pode ser solução gasosa, aquosa ou filme fino (substância ou amostra) nos qual a interação molecular a ser detectada ocorre. A estrutura do arranjo pode ser de uma única camada metálica ou com múltiplas interfaces metal/dielétrico, em superfícies com geometria periódica (grades de difração), em fibras-ópticas ou mesmo em nano-partículas.

A escolha dos materiais que irão compor a multicamada é fundamental para obtenção de uma boa resposta SPR. O tipo de metal e do material opticamente transmissivo utilizados definirão as condições de ressonância para uma determinada substância, e por isso, a caracterização da resposta do sensor SPR com os materiais escolhidos deve ser realizada

para averiguar previamente a qualidade do sensor a ser desenvolvido e em que condições este deve operar. Além disso, especificações técnicas relacionadas ao espectro de excitação, tipo de fonte de luz, tipo de detector óptico, dimensões, ângulos e geometria do caminho óptico também determinam a viabilidade ou não do uso de determinados materiais para compor a multicamada. Os modos de operação de um sensor SPR, a saber: modo angular e modo espectral, constituem outro fator impactante no desenvolvimento, processamento de dados e ajustes operacionais de um sensor SPR.

Nas literaturas especializadas cujo o tema central é o estudo do arranjo multicamadas de sensores SPR, encontram-se discussões sobre diferentes estruturas [1–3] ou diferentes configurações de uma mesma estrutura [4, 5], mas para um mesmo arranjo de materiais. Quando há discussões sobre diferentes arranjos de materiais de uma mesma estrutura e/ou configuração da multicamada, tais estudos tratam-se apenas aos metais ouro e prata [6], sem apresentar aspectos relacionados aos diferentes modos de operação. Mesmo que outros metais sejam discutidos [7, 8], um estudo sistemático não é apresentado. Em alguns estudos os resultados são obtido em configuração complexa, exigindo maior dificuldade de instrumentação e construção do sensor [6, 8].

Nesse sentido, um estudo sistemático sobre os arranjos multicamadas de sensores SPR em uma configuração de implementação relativamente simples, para contribuir com o *design*, construção e otimização deste tipo de sensor é importante. O estudo deve apresentar as limitações, sensibilidades, condições de operação e comparações entre os arranjos de diferentes materiais, englobando aspectos sobre os diferentes modos de operação, limites de detecção e qualidade da resposta para uma variedade de materiais.

No tocante aos plasmons, estes constituem as oscilações dos elétrons de valência de um metal. A plasmônica estuda a interação luz-matéria entre campos eletromagnéticos e elétrons livres de um metal. Os sensores SPR baseiam-se na interação plasmônica, que pode levar a um acoplamento óptico entre o vetor de onda de uma fonte de luz e o vetor de onda dos plasmons de superfície (SPW - Surface Plasmon Wave). Nesse sentido, a estrutura multicamadas de um sensor SPR necessita de um material metálico para a existência dos plasmons.

O meio opticamente transmissivo do arranjo multicamadas, denominado de substrato óptico, é o caminho óptico percorrido pela onda eletromagnética incidente (a luz) e no qual

o material metálico é depositado. Assim, os diferentes arranjos de materiais para o par substrato/metal define o ângulo de incidência e o comprimento de onda para o acoplamento da luz incidente com os plasmons.

As oscilações dos elétrons de valência de um metal, os plasmons, possuem frequência e vetor de onda bem definidos. Para filmes metálicos finos essas oscilações são ondas que viajam ao longo da superfície metálica (as SPW), fato pelo qual são denominados de plasmons de superfície (SP - Surface Plasmons). Na existência dos plasmons de superfície, uma situação de ressonância (excitação dos SP) pode acontecer quando a superfície metálica é iluminada com uma onda eletromagnética sob polarização e ângulo de incidência bem definidos. Essa excitação eletromagnética, também conhecida como *polariton* dos plasmons de superfície (SPP - Surface Plasmons Polariton), propaga-se paralelamente à interface metal/substância e constituem ondas evanescentes na direção perpendicular à fronteira do metal e da substância em análise (amostra), sendo muito sensível a qualquer alteração nessa interface tal como a adsorção de moléculas na superfície do metal. Os sensores SPR são capazes de medir o índice de refração e a espessura do analito contido na amostra.

Assim, uma forma possível de observar a SPP é através do monitoramento da absorção da onda luminosa com comprimento de onda fixo para diferentes ângulos de incidência. Desse modo, ajustando o ângulo de incidência é possível sintonizar o acoplamento entre a componente paralela à superfície do vetor de onda da luz incidente ( $k_{px}$ ) e o vetor de onda dos plasmons de superfície ( $k_{SP}$ ). Não obstante, uma vez determinado o ângulo da SPP é possível obter o espectro da SPP fazendo variar o comprimento de onda da luz incidente, e conseqüentemente, o acoplamento óptico. As duas formas descritas de observar a excitação dos SPs, descrevem os modos angular ou AIM (Angular Interrogation Mode) e espectral ou WIM (Wavelength Interrogation Mode) nos quais um sensor SPR pode operar.

A excitação óptica dos SPs exige a correta escolha da polarização da luz, da cor da luz (comprimento de onda), do tipo de metal, da espessura do metal, da estrutura que dá suporte aos plasmons, do ângulo e da geometria utilizada. Alguns fatores são relevantes para indicar o comportamento da excitação dos SPs como: a energia da onda evanescente gerada na SPP, a qual depende principalmente das espessuras e propriedades óptica dos materiais; a profundidade de penetração, relacionada a componente perpendicular de  $k_{SP}$ , que limita a variação de índice de refração detectável pela resposta SPR; e o comprimento de

propagação, relacionada a parte imaginária de  $k_{SP}$ , que representa as atenuações sofridas pela SPP devido a absorção do metal e perdas por radiação [9], tornando-se a primeira condição limitante para construção de sensores com múltiplas áreas sensíveis.

A estrutura da multicamada que define o acoplamento entre os SPs e a luz incidente pode ser uma única camada metálica (denominada SPR tradicional), estruturas com múltiplas interfaces metálicas ou mesmo nano-partículas (chamada de SPR localizada). Historicamente, a SPR tradicional é a estrutura mais utilizada e existem duas configurações principais para o desenvolvimento de sensores SPR - a partir da reflexão interna total atenuada (ATR - Attenuated Total Reflection) através de prismas-acoplados [4] ou através de fibras-ópticas [3] e a partir da difração em grades de difração [4]. Em particular, a configuração ATR em prismas proposta por Kretschmann apresentou resultado eficaz passando a ser a abordagem mais utilizada em sensores SPR [10]. Em síntese, a configuração de Kretschmann compreende um filme fino de metal posicionado entre dois meios dielétricos, iguais ou diferentes, colocados sobre um material opticamente transmissivo, o prisma.

A Figura 1.1 ilustra a estrutura multicamada da configuração de Kretschmann, indicando os principais elementos que a compõem e os materiais que dão suporte aos plasmons, formando um sistema multicamadas (substrato óptico-prisma/ metal/ substância ou amostra).

As aplicações plasmônicas de sensores SPR são usadas como tecnologia para detecção/medição de eventos químicos e biológicos devido a ressonância de plasmons de superfície permitir o cálculo das cinéticas de interações biomoleculares [11] em tempo real com um alto grau de sensibilidade [12]. Interações plasmônicas ensejam métodos não destrutivos de análise de substâncias, produzindo informações espaciais e temporais detalhadas, dessa forma, possibilita o desenvolvimento de transdutores ópticos portáteis, baratos e rápidos se comparada a outras tecnologias [13, 14]. Aplicações para identificação de interações antígeno-anticorpo [15], proteômica [16], aplicações forenses e triagem de drogas [17], reações enzimáticas [18] e na busca por novos marcadores [19], são exemplos em que sensores SPR são empregados. A possibilidade de desenvolver biossensores SPR, que consistem de um sensor SPR no qual uma camada de biorreconhecimento é incorporada para interação com o analito de interesse presente na amostra, ampliam ainda mais a atuação da tecnologia SPR. Além disso, a SPR permite uma medição direta por evitar o uso de indicadores de

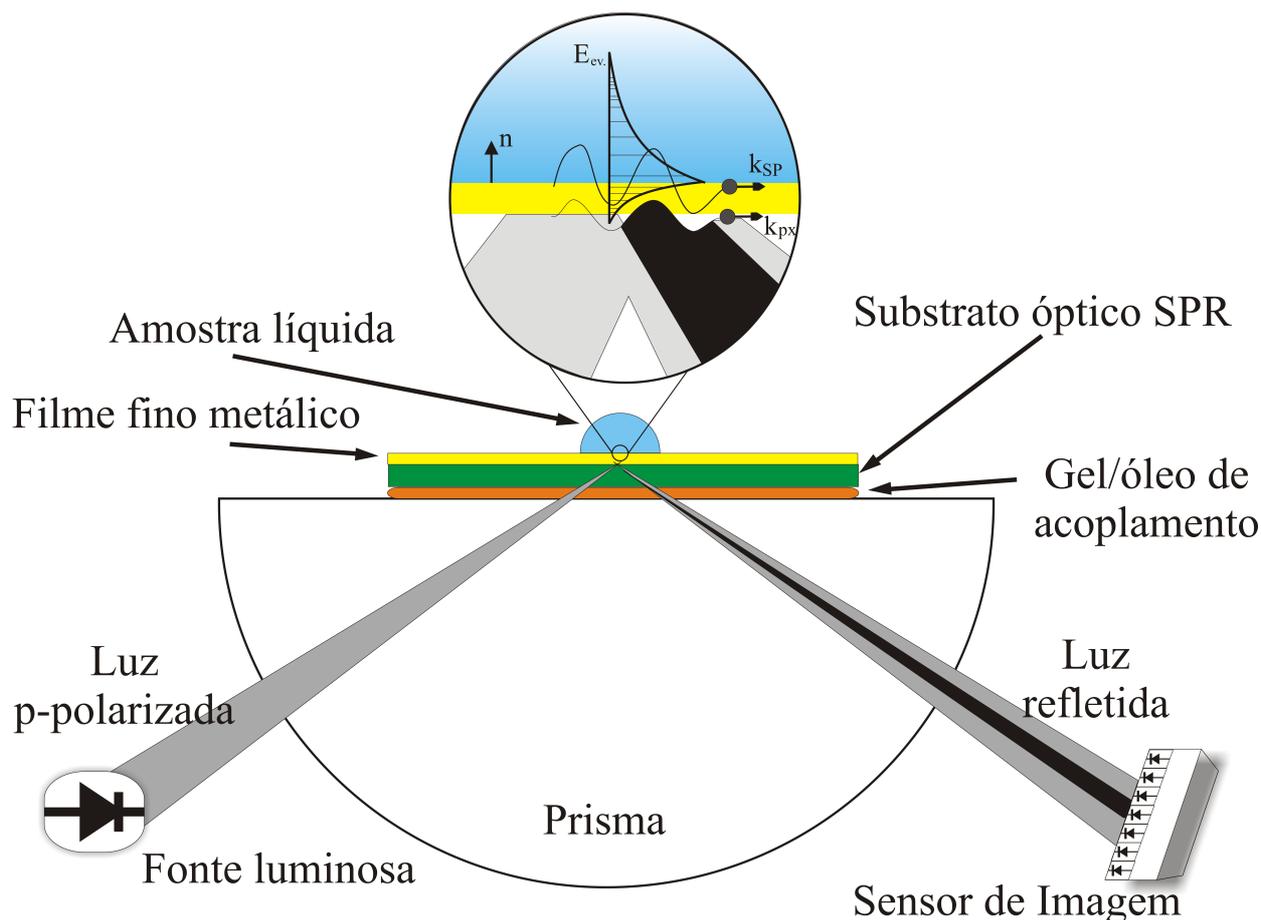


Figura 1.1: Esquema indicando os elementos necessários para um sensor SPR com configuração ATR-Kretschmann. No exemplo, emprega-se um prisma semi-cilíndrico sobre o qual um substrato óptico fino com uma fina camada de metal depositada é acoplado com o uso de um gel. A luz incidente, após interagir com os vários materiais, é capturada por um componente fotossensível (sensor de imagem). Estão indicados na figura o campo evanescente ( $E_{ev}$ ) e os vetores de onda da luz incidente ( $k_{px}$ ) e dos SPs ( $k_{SP}$ ).

cor, fluorescência ou molécula rádio-ativa como marcador para obtenção da resposta, que podem interferir no evento sob análise.

## 1.1 Objetivos e metodologia

O objetivo principal do trabalho é investigar os diferentes arranjos da estrutura multicamadas do tipo substrato/metal/dielétrico na configuração de Kretschmann para a construção de sensores SPR operando com soluções aquosas.

Com foco na configuração ATR-prisma, um sensor SPR que pode ser operado nos modos

AIM e WIM foi desenvolvido para coleta, processamento e análise das respostas SPR. A Análise de Fresnel (AF) é empregada para determinar o Ponto de Operação (OP) de cada arranjo substrato/metal utilizado. A AF fornece a resposta espectral da SPP, com a qual foi possível determinar a fonte de luz necessária para excitação dos plasmons de superfície. Todavia, a determinação das propriedades ópticas dos metais e substratos, as quais são dependentes do comprimento de onda, deve ser realizado para corretude da AF, e assim, determinar quais arranjos e em que condições possuem boa resposta SPR.

A caracterização da resposta SPR para cada combinação substrato/metal presente na estrutura multicamadas foi realizada de acordo com os seguintes parâmetros: faixa de ângulo de incidência, faixa de comprimento de onda, espessura do metal, substrato óptico, faixa de resposta dinâmica, sensibilidade, detectividade, profundidade/contraste e largura da curva SPR. Tais informações são essenciais para a construção de um sensor SPR e posterior uso em aplicações baseadas na ressonância de plasmons de superfície.

Devido a facilidades de instrumentação e possibilidade de operar em ambos os modos, o PPBIO (Prisma Polimérico para aplicação BIOLógicas) [20] foi utilizado. Novos prismas foram manufaturados com os substratos escolhidos para caracterização da resposta SPR. As principais tarefas que envolvem a confecção do PPBIO são a construção do molde, a deposição do metal e os processos de polimento e recozimento. Para os pontos de operação determinados pela AF, a excitação dos SPs nos modos angular e espectral exigem instrumentações diferentes, com hardwares específicos. Dessa forma, códigos computacionais diferentes (um para cada modo) tiveram que ser desenvolvidos para a correta comunicação com os sensores de imagem e os respectivos componentes de hardware utilizados.

Os sensores SPR desenvolvidos foram testados em diferentes tipos de aplicações. Os resultados experimentais dos parâmetros para caracterização são apresentados. A sensibilidade instrumental é calculada para diferentes tipos de substâncias em ensaios com ligações reversíveis e irreversíveis. Os resultados dos diferentes experimentos foram comparados com modelo utilizado na AF.

Os resultados experimentais e interpretações são discutidos em termos de trabalhos futuros e potenciais melhorias. A caracterização da resposta nos modos AIM e WIM também é explorada para otimização do *design* do PPBIO.

## 1.2 Estrutura do documento

O conteúdo desta tese está subdividido em capítulos. Na introdução foram apresentados a contextualização e o objetivo do presente trabalho.

**Capítulo 2 - Fundamentação teórica para sensores SPR:** Neste capítulo, apresenta-se a base conceitual usada em todo o trabalho, trazendo uma abordagem sobre a excitação dos SP e indicando os mecanismos elementares. No que diz respeito à interação luz-matéria, são apresentadas as formulações físicas e matemáticas para a luz atravessando uma interface metal/dielétrico para uma camada metálica homogênea.

**Capítulo 3 - Caracterização do transdutor SPR:** Nesse capítulo são descritos os procedimentos utilizados para caracterização do transdutor SPR. Os diferentes arranjos substrato/metal que irão compor a estrutura multicamada do transdutor SPR são analisados e as figuras de mérito empregadas são apresentadas. Após o estudo de cada arranjo, define-se o ponto de operação para o par substrato/metal e os resultados são sumarizados em tabelas. Por fim, apresentam-se os impactos de um determinado arranjo na qualidade do sensor de imagem utilizado no sistema e como a qualidade do processamento pode compensar a resposta do sensor SPR.

**Capítulo 4 - Construção do transdutor SPR:** Nesse capítulo, são descritos os detalhes relativos ao desenvolvimento do sensor SPR que utiliza a solução baseada no prisma óptico polimérico PPBIO. As etapas para construção de um instrumento de medição baseado na SPR são apresentadas, enfatizando os impactos das decisões tomadas em cada uma das etapas para construção do sensor.

**Capítulo 5 - Resultados:** Nesse capítulo, são apresentados e discutidos os resultados experimentais obtidos com o sensor desenvolvido. Os resultados são apresentados para as diferentes estruturas multicamadas. Para cada combinação substrato/metal são apresentados as curvas SPR e os sensorgramas nos modos AIM e WIM.

**Capítulo 6 - Conclusões:** Nesse capítulo, são apresentados aspectos de natureza conclusiva e relativos às etapas anteriormente referenciadas. Os resultados e interpretações serão discutidos em termos de trabalhos futuros e potenciais melhorias.

## Capítulo 2

# Fundamentação Teórica para sensores SPR

A excitação óptica dos plasmons de superfície em filmes finos metálicos é um fenômeno físico cientificamente e tecnologicamente útil para o *design* e confecção de sensores ópticos para uma variedade de aplicações bio-físico-químicas.

Da constatação da existência dos plasmons de superfície, apresentados na Roma antiga através do copo de Licurgo [21], até o surgimento dos imunossensores SPR [22] - biossensores SPR em que um anticorpo é usado como elemento de biorreconhecimento, muito trabalho foi desenvolvido.

A primeira observação dos SPs ocorreu em 1902 quando R.W. Wood percebeu linhas escuras no espectro de difração ao incidir uma luz policromática em grades de difração metálica [23], fenômeno que posteriormente seria explicado por Ritchie em termos da SPR [24]. Nos anos 60, Kretschmann e Raether [25] e Andreas Otto [26] demonstraram a existência do efeito SPR pelo processo da atenuação da reflexão interna total da luz (ATR), ao incidir um feixe luminoso em um prisma acoplado a uma superfície metálica. Otto propôs uma configuração na qual o filme metálico é separado do prisma por uma distância da ordem do comprimento de onda da luz incidente. Kretschmann utilizou uma configuração em que o metal é depositado diretamente sobre o prisma, tornando menos complexa a instrumentação do sensor e a troca da amostra sob análise. Mais tarde, foram apresentados o uso da ressonância de plasmon de superfície em aplicações com os moldes de um biossensor [27, 28].

Atualmente, o desenvolvimento de novas configurações para detecção da SPR, bem como aplicações que empregam dispositivos SPR para medição de características físicas, químicas e biológicas têm sido descritas.

## 2.1 Condições para excitação dos plasmons de superfície

As propriedades ópticas dos metais são descritas pela denominada função dielétrica complexa (CDF), da forma  $\epsilon_2(\lambda) = \epsilon_{2r}(\lambda) + i\epsilon_{2i}(\lambda)$ , a qual pode ser explicada pelo modelo do gás de elétrons livres proposto por Paul Drude [29]:

$$\epsilon_2(\lambda) = 1 - \frac{\lambda_c \lambda^2}{\lambda_p^2(\lambda_c + j\lambda)} \quad (2.1)$$

em que  $\lambda_p = 2\pi c/\omega_p$  representa o comprimento de onda dos plasmons (com  $\omega_p$  representando a frequência de oscilação dos plasmons) e  $\lambda_c = 2\pi c/\omega_c$  refere-se ao comprimento de onda de colisão ( $\omega_c$  representando a frequência de colisão), obtidos por [30]:

$$\frac{1}{\lambda_p} = \sqrt{\frac{Qe^2}{4\pi^2 c^2 m \epsilon_0}} \quad (2.2)$$

$$\frac{1}{\lambda_c} = \frac{v_f}{2\pi c R_{bulk}} \quad (2.3)$$

em que  $Q$  representa a concentração dos elétrons livres,  $m$  e  $e$  representam a massa e a carga do elétron,  $\epsilon_0$  é a permissividade elétrica no vácuo,  $c$  expressa a velocidade da luz,  $R_{bulk}$  representa o caminho livre médio dos elétrons de condução e  $v_f$  é a velocidade dos elétrons na energia de Fermi.

A quantização da oscilação dos elétrons livres é denominada de plasmons. Quando estes ocorrem ao longo da superfície de um metal são então chamados de plasmons de superfície (SP). Como mencionado anteriormente, os plasmons de superfície são sensíveis à radiação de entrada e a injeção de elétrons ou fótons é utilizada para a excitação dos SPs. Para o caso da injeção de feixes luminosos, método utilizado neste trabalho, um Sistema Multicamadas (arranjo multimacadas) para a estrutura ATR-Kretschmann é ilustrado em detalhes na Figura 2.1.

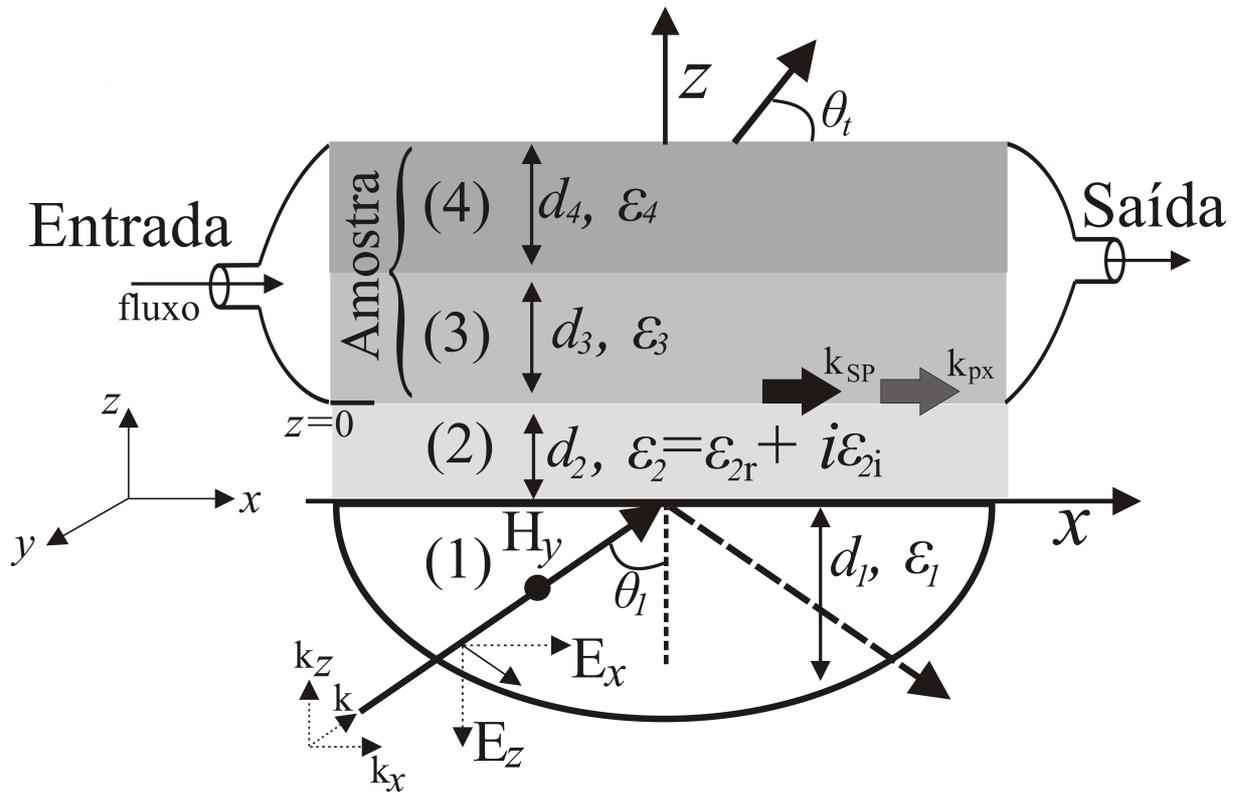


Figura 2.1: Sistema multicamadas na configuração de Kretschmann com 4 camadas em que (1) é o substrato óptico-prisma, (2) metal, (3) e (4) representam o analito e a amostra que contém. A célula de fluxo conduz a amostra por sobre a superfície do metal. Espessuras, vetores, permissividades dielétricas, ângulos e plano de incidência indicados na figura.

Nessa estrutura, a excitação dos SP se dar com a incidência de luz p-polarizada na multicamada, sob a condição de reflexão interna total (RIT). A luz com polarização tipo p possui campo elétrico paralelo e campo magnético perpendicular ao plano de incidência. Na figura, o plano de incidência é o plano-XZ e a SPW se propaga na direção paralela a interface, definida como eixo x. A direção perpendicular à interface é definida como o eixo z. Para uma onda transverso-magnética (p-polarizada), a componente tangencial do campo magnético  $\mathbf{H}$ ,  $H_y$ , é a única existente, ou seja,  $H_x = H_z = 0$ . Para o campo elétrico  $\mathbf{E}$ , existem apenas as componentes normal  $E_z$  e paralela  $E_x$  à interface. Assim, pode-se escrever os campos elétricos e magnéticos no meio metálico ( $z < 0$ ) e na amostra ( $z > 0$ ) como [31]:

$$\begin{aligned}
 z > 0 : \quad \mathbf{E}_3 &= (E_{x3}, 0, E_{z3}) e^{i(k_{x3}x + k_{z3}z - \omega t)} \\
 \mathbf{H}_3 &= (0, H_{y3}, 0) e^{i(k_{x3}x + k_{z3}z - \omega t)}
 \end{aligned} \tag{2.4}$$

$$\begin{aligned}
 z < 0 : \quad \mathbf{E}_2 &= (E_{x2}, 0, E_{z2}) e^{i(k_{x2}x + k_{z2}z - \omega t)} \\
 \mathbf{H}_2 &= (0, H_{y2}, 0) e^{i(k_{x2}x + k_{z2}z - \omega t)}
 \end{aligned} \tag{2.5}$$

com  $\mathbf{k}_2$  referindo-se ao vetor da onda no meio 2 (metal) e  $\mathbf{k}_3$  ao vetor da onda no meio 3 (amostra), sendo  $k_{xq}$  e  $k_{zq}$  para  $q = 2, 3$  os valores posicionais nas direções x e z desses vetores;  $\theta_1$  e  $\theta_t$  são os ângulos de incidência e transmissão respectivamente e  $\omega$  a frequência da onda.

Aplicando a equação de Maxwell  $\nabla \cdot \mathbf{E} = 0$  (Lei de Gauss), encontram-se as expressões para o campo elétrico nos meios 2 e 3 [31]:

$$E_{z2} = -E_{x2} \frac{\mathbf{k}_x}{k_{z2}} \tag{2.6}$$

$$E_{z3} = -E_{x3} \frac{\mathbf{k}_x}{k_{z3}}. \tag{2.7}$$

A relação entre  $H_y$  e  $E_x$  pode ser obtida com a equação de Maxwell  $\nabla \times \mathbf{E} = -\mu \frac{\partial \mathbf{H}}{\partial t}$  (Lei de Faraday), que para o caso de  $\mu = \mu_0$  obtém-se [31]:

$$H_{y3} = -\omega E_{x3} \epsilon_3 \epsilon_0 / k_{z3} \tag{2.8}$$

$$H_{y2} = -\omega E_{x2} \epsilon_2 \epsilon_0 / k_{z2}, \tag{2.9}$$

em que  $\mu_0$  e  $\epsilon_0$  são a permeabilidade e a permissividade no vácuo respectivamente. Por fim, aplicando as condições de fronteira em  $z = 0$ , é possível determinar a condição de ocorrência dos plasmons de superfície. As condições de fronteira para a polarização tipo-p ou TM, consistem na continuidade das componentes tangenciais do campo elétrico e da continuidade do campo magnético, ou seja,  $H_{y2} = H_{y3}$  e  $E_{x2} = E_{x3}$  levando a relação de existência dos SPs [32]

$$\frac{\epsilon_2}{\mathbf{k}_2} = \frac{\epsilon_3}{\mathbf{k}_3} \tag{2.10}$$

e também as relações abaixo:

$$k_{z3} = -i(k_x^2 - \epsilon_3 k_0^2)^{1/2} \quad k_{z2} = -i(k_x^2 - \epsilon_2 k_0^2)^{1/2} \tag{2.11}$$

com  $k_0 = \omega/c = 2\pi/\lambda$ . Substituindo (2.10) em (2.11), é possível obter as relações de

dispersão (entre o vetor de onda e  $\lambda$ ) paralela e tangente à superfície de propagação [33]:

$$k_x = k_0 \left( \frac{\epsilon_2 \epsilon_3}{\epsilon_2 + \epsilon_3} \right)^{1/2} \quad (2.12)$$

$$k_{jz} = k_0 \left( \frac{\epsilon_j^2}{\epsilon_2 + \epsilon_3} \right)^{1/2} \quad (2.13)$$

em que (2.13) é orientada ao meio, com  $\epsilon_j$  referindo-se a permissividade do metal ( $j = 2$ ) ou da amostra ( $j = 3$ ).

Levando em consideração a permissividade complexa do metal, chega-se após alguns rearranjos matemáticos a expressão complexa para o vetor dos plasmons de superfície ( $k_{SP} = k'_{SP} - ik''_{SP}$ ):

$$k'_{SP} \approx k_0 \left( \frac{\epsilon_{2r} \epsilon_3}{\epsilon_{2r} + \epsilon_3} \right)^{1/2} \quad (2.14)$$

$$k''_{SP} \approx k'_{SP} \frac{\epsilon_{2i} \epsilon_3}{2\epsilon_{2r}(\epsilon_{2r} + \epsilon_3)} \quad (2.15)$$

O acoplamento óptico que dá origem a SPP ocorre quando a componente horizontal da luz p-polarizada incidente ( $k_{px}$ ), expressa por  $k_{px} = k_0 \sqrt{\epsilon_1} \sin(\theta_1)$ , e o vetor dos plasmons de superfície ( $k_{SP}$ ) oscilam na mesma frequência e amplitude. Em geral,  $k''_{SP}$  é negligenciado pelo fato de  $\epsilon_{2i}$  apresentar magnitude numérica muito pequena ( $k''_{SP} \approx 0$ ) na faixa de comprimento de onda utilizado em aplicações SPR (tipicamente:  $400 < \lambda < 1000$  nm). Assim, a SPP pode ser aproximada por:

$$\underbrace{k_0 \sqrt{\frac{\epsilon_2 \epsilon_3}{\epsilon_2 + \epsilon_3}}}_{k_{SP}} = \underbrace{k_0 \sqrt{\epsilon_1} \sin(\theta_1)}_{k_{px}}. \quad (2.16)$$

Vale salientar que a ressonância é obtida variando as condições de acoplamento entre a luz p-polarizada e os SP, proporcionando dois modos básicos de operação, a saber [34]:

- Modo de Interrogação Espectral (Modo-WIM): o ângulo de incidência do feixe de luz que atinge o arranjo multicamadas é mantido constante. As condições de acoplamento dependem do comprimento de onda e um espectrômetro pode ser utilizado para medir a refletividade em função do comprimento de onda;
- Modo de Interrogação Angular (Modo-AIM): o comprimento de onda dos feixes de

luz que atinge o arranjo multicamadas é fixo. As condições de acoplamento, neste caso, dependem dos ângulos dos feixes de luz e uma câmera pode ser utilizada para determinar a refletividade em função do ângulo de incidência.

### 2.1.1 Dispersão dos plamons de superfície

A Figura 2.2 ilustra a interação entre os fótons e os SPs, em termos da conservação de energia e momento. A dispersão dos plasmons de superfície  $E(k_{SP})$ , lado esquerda da eq. 2.16, tem a região para ocorrência da SPP limitada em 6.6 eV, para uma superfície de Alumínio descrita pelo modelo de Drude. Acima desse limite, está a região QB (quase-bound), imaginária e com sentido contrário, sendo denominada como o nível de transição entre a SPP e a região dos plasmons radiativos (RPP)[35].

Graficamente a interseção entre a dispersão dos fótons  $E(k_{px})$ , lado direito da eq. (2.16), e a dispersão dos plasmons de superfície  $E(k_{SP})$  caracteriza o acoplamento óptico expresso em (2.16). Idealmente,  $E(k_{px})$  possui um perfil retilíneo e no vácuo posiciona-se fora da região de dispersão dos plasmons (SPP). Todavia, ao incidir na interface através do substrato óptico,  $E(k_{px})$  intercepta a região SPP em um ângulo e energia (comprimento de onda) bem definidos.

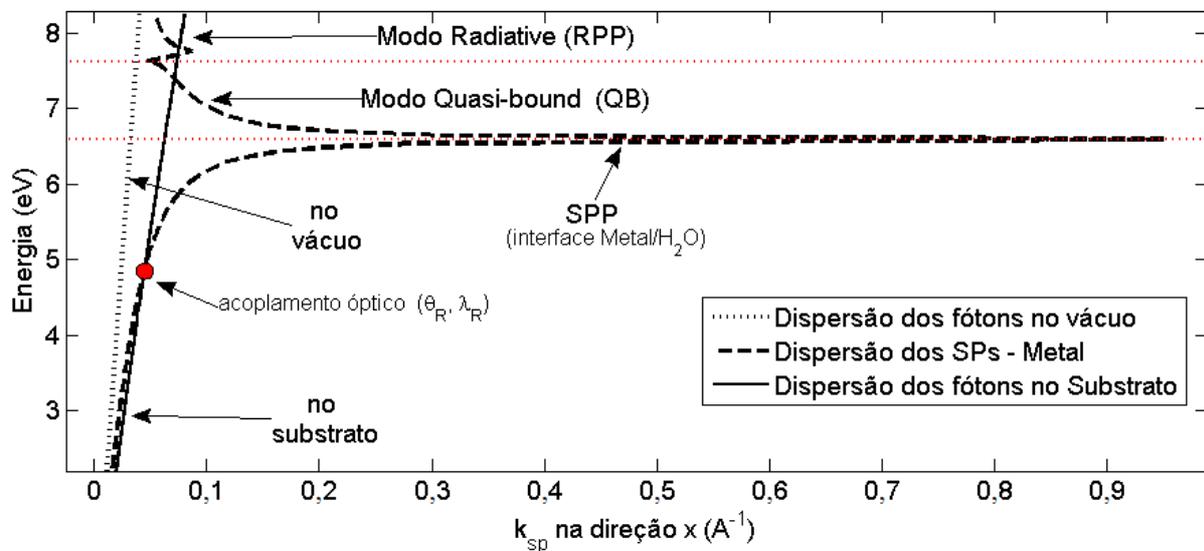


Figura 2.2: Dispersão dos SP ( $E(k_{SP})$ ) em uma interface metal- $H_2O$ , com indicação das regiões SPP, QB e RPP. Dispersão dos fótons ( $E(k_{px})$ ) com ângulo de incidência de  $75^\circ$ , no vácuo e em substrato de safira. A interseção das curvas (acoplamento óptico) representa a situação em que ocorre a ressonância.

## 2.2 Análise de Fresnel

A aproximação expressa em (2.14), e conseqüentemente por (2.16), pode ser aprimorada para o caso de múltiplas camadas, e assim, conseguir uma aproximação mais precisa da interação luz-matéria para as condições de acoplamento entre  $k_{SP}$  e  $k_{px}$ . No sistema multicamadas apresentado na Figura 2.1, as interfaces substrato óptico/metal (1/2) e metal/analito, amostra (2/3,4) dão suporte a SPP. Nessa estrutura, as duas interfaces acoplam-se opticamente com a onda evanescente da SPP propagando-se pelo filme metálico impressado entre os dois meios dielétricos [32]. Uma forma conveniente de analisar o comportamento da luz ao atravessar as várias camadas (4 camadas no esquema da Fig.2.1) é através da representação matricial dos coeficientes de Fresnel [36].

Na estrutura de Kretschmann, a condição de ressonância é monitorada por meio da luz refletida ao atravessar o sistema multicamadas. As amplitudes dos campos magnéticos e elétricos da entrada da camada até uma distância  $z$  dentro da mesma, são expressas pelas matrizes de Abelès [36, 37]:

$$\begin{bmatrix} H_{yj}^0 \\ -E_{xj}^0 \end{bmatrix} = M_j \begin{bmatrix} H_{yj}(z) \\ -E_{xj}(z) \end{bmatrix} \quad (2.17)$$

em que  $H_{yj}^0$  e  $E_{xj}^0$  são as amplitudes de  $H_{yj}$  e  $E_{xj}$ , respectivamente, calculados no limite  $z$  da camada  $j$ .  $M_j$  é a matriz de transferência que descreve a transferência de propagação do meio  $j$  para o meio  $j + 1$ , definida por:

$$M_j = \begin{bmatrix} \cos\beta_j & -\frac{i}{q_j} \text{sen}\beta_j \\ -iq_j \text{sen}\beta_j & \cos\beta_j \end{bmatrix} \quad (2.18)$$

a qual depende das propriedades ópticas de absorbância  $\beta_j = k_0 d_j \sqrt{n_j^2 - (n_1 \text{sen}(\theta_1))^2}$  e admitância  $q_j = \sqrt{n_j^2 - (n_1 \text{sen}(\theta_1))^2} / n_j^2$  de cada meio, além da espessura ( $d_j$ ) e índice de refração ( $n_j$ ), ou permissividade ( $\epsilon_j$ ), do mesmo.

As amplitudes dos campos da primeira até a N-ésima camada são expressas pela matriz de transferência total,  $M_{tot}$ , calculada em função da matriz de transferência individual  $M_j$

para cada meio:

$$\begin{bmatrix} H_{y1}^0 \\ -E_{x1}^0 \end{bmatrix} = M_{tot} \begin{bmatrix} H_{yN}^0 \\ -E_{xN}^0 \end{bmatrix}, M_{tot} = \prod_{j=1}^{j=N-1} M_j \quad (2.19)$$

Assim, o coeficiente de reflexão total  $r(\theta)$  e  $r(\lambda)$ , denominado coeficiente de refletividade de Fresnel, do sistema multicamadas composto por  $N$  camadas pode ser obtido a partir de (2.19) e é expresso por:

$$r(\theta, \lambda) \equiv \frac{(M_{11} + M_{12}q_N)q_1 - (M_{21} + M_{22}q_N)}{(M_{11} + M_{12}q_N)q_1 + (M_{21} + M_{22}q_N)}, \quad (2.20)$$

em que  $M_{11}$ ,  $M_{12}$ ,  $M_{21}$  e  $M_{22}$  são os elementos da matriz  $M_{tot}$ .

Dessa forma, o detector óptico captura a luz refletida  $r$ , que é usualmente denominada de curva SPR. Uma curva SPR típica é apresentada na Figura 2.2. Quando ocorre a ressonância, um valor mínimo de refletividade é observado e então os valores de  $\theta_R$  e  $\lambda_R$ , a depender do modo de interrogação, são determinados. Com o valor mínimo da curva SPR, pode-se determinar o parâmetro FWHM (full width at half maximum), também chamado de ponto médio entre o valor máximo e mínimo da curva SPR, local onde os valores  $C_R$  e  $C_L$  são estimados. Os parâmetros  $C_R$  e  $C_L$  representam a distância em graus (modo AIM) ou em nanômetros (modo WIM) entre o mínimo da curva e as bordas direita e esquerda da curva, respectivamente. Os parâmetros largura ( $FWHM = C_R + C_L$ ) e assimetria ( $\Gamma = C_R/C_L$ ) da curva SPR são expressos em função destes dois valores [38].

### 2.2.1 Sensor SPR como refratômetro

A Figura 2.3 também mostra que estes valores ( $\theta_R$ ,  $\lambda_R$ ,  $FWHM$  e  $\Gamma$ ) sofrem deslocamento quando a camada bioespecífica interage com analito presente na amostra, alterando o valor de índice de refração. Usando a condição de acoplamento (2.16) é possível determinar o valor do índice de refração do analito ( $n_3$ ). Para o modo AIM, a expressão para  $n_3$  ( $n_3 \approx \sqrt{\epsilon_3}$ ) em função de  $\theta_R$  enquanto  $\lambda$  é fixo, é da forma:

$$n_3(\theta_R) = \sqrt{\frac{\epsilon_3(\lambda) [n_1(\lambda) \text{sen}(\theta_R)]^2}{\epsilon_{2r}(\lambda) - [n_1(\lambda) \text{sen}(\theta_R)]^2}} \quad (2.21)$$

Similarmente, no modo WIM o índice de refração do analito em função de  $\lambda_R$  para um

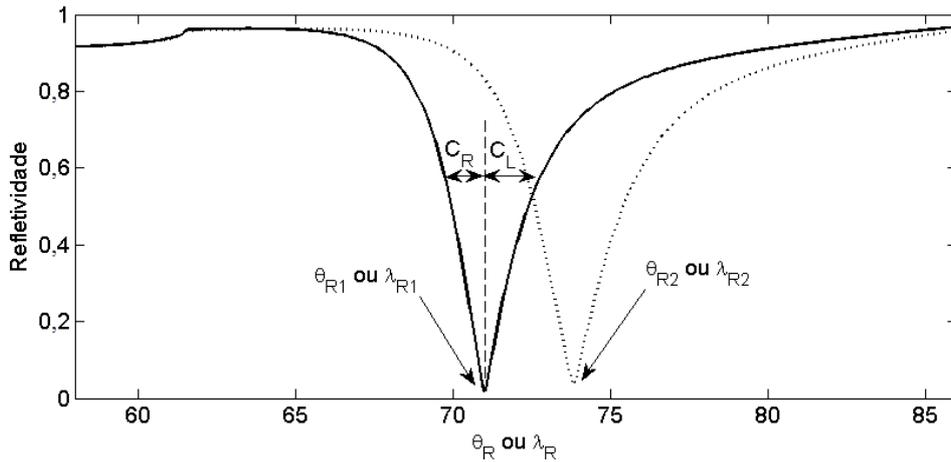


Figura 2.3: Exemplo de curva para a SPR obtida através da Análise de Fresnel. A variação de  $\lambda_{R1}$  para  $\lambda_{R2}$  no modo WIM, ou de  $\theta_{R1}$  para  $\theta_{R2}$  no modo AIM, indica uma alteração no índice de refração da amostra.

ângulo de incidência fixo  $\theta_1$ , pode ser expresso por [34]:

$$n_3(\lambda_R) = \sqrt{\sqrt{\epsilon_{3r}^2(\lambda_R) + \epsilon_{3i}^2(\lambda_R)} + \frac{\epsilon_{3r}^2(\lambda_R)}{2}}. \quad (2.22)$$

com  $\epsilon_3 = \epsilon_{3r} + i\epsilon_{3i}$  da forma:

$$\epsilon_3 = \underbrace{\left[ \frac{\epsilon_{2r} n_1^2 \text{sen}^2(\theta_1) + \epsilon_{2r} - n_1^2 \text{sen}^2(\theta_1) + \epsilon_{2i} n_1^2 \text{sen}^2(\theta_1)}{(\epsilon_{2r} - n_1^2 \text{sen}^2(\theta_1))^2 + \epsilon_{2i}^2} \right]}_{\epsilon_{3r}} - i \underbrace{\left[ \frac{\epsilon_{2i} n_1^4 \text{sen}^4(\theta_1)}{(\epsilon_{2r} - n_1^2 \text{sen}^2(\theta_1))^2 + \epsilon_{2i}^2} \right]}_{\epsilon_{3i}}, \quad (2.23)$$

As expressões acima ilustram que o funcionamento físico de um sensor de SPR, essencialmente, assemelha-se ao de um refratômetro óptico.

### Outros aspectos relativos ao desenvolvimento de um sensor SPR

Os demais conceitos necessários à realização do presente trabalho, serão logicamente distribuídos ao longo do texto para uma melhor apresentação. Assim, conceitos relativos a óptica geométrica do sensor SPR usando o PPBIO serão discutidos no Capítulo 3. Conceitos relativos a confecção de materiais plásticos através do processo de injeção serão discutidos no

Capítulo 4, bem como conceitos relativos a deposição de filmes finos; e aspectos relativos ao processamento de sinal e de imagem serão discutidos no Capítulo 5.

## 2.3 Resumo

Neste capítulo apresentou-se as formulações matemáticas para a excitação dos SPs. Partindo das expressões para os campos elétricos e magnéticos de uma onda eletromagnética do tipo  $p$ , apresentou-se as condições para existência dos plasmons de superfície. Posteriormente, as equações de dispersão para o vetor dos SPs, suas componentes normal e tangencial e suas partes real e imaginária foram apresentados. Para o caso de uma única interface, a condição para ocorrência da SPP pode ser aproximada com a igualdade entre os vetores  $k_{SP}$  e  $k_{px}$ . Para o sistema com múltiplas interfaces, a ocorrência da SPP é melhor representada computando a influência de cada meio na interação-luz matéria através das equações de Fresnel. A curva SPR foi apresentada, bem como alguns parâmetros que podem ser extraídos da curva. Para maiores detalhes, indicam-se as referências [14, 32, 34]. Para o fenômeno da SPP de longo-alcance (LRSP) indicamos ao leitor consultar as referências [32, 33, 39, 40]. Sobre a ressonância de plasmons localizada em nano-partículas (LSPR), ver [2, 41–44].

# Capítulo 3

## Projeto do transdutor SPR

Os sensores SPR foram desenvolvidos com base no PPBIO [20]. Devido principalmente a sua geometria trapezoidal, o PPBIO torna menos dispendiosa a instrumentação de um dispositivo SPR por evitar partes móveis e/ou rotacionais. Suas superfícies laterais são espelhadas para que haja a reflexão da luz incidente. Esse prisma possui uma fina camada metálica depositada na base superior, evitando o uso de óleo/gel para acoplamento da superfície metálica.

A Figura 3.1 apresenta as etapas da metodologia para construção do sensor SPR utilizando o PPBIO. A metodologia pode ser dividida em duas etapas: uma composta pelo estudo computacional sobre os efeitos da multicamada na resposta e geometria do prisma e outra com o objetivo de manufaturar o sensor. A caracterização do transdutor SPR consiste no Ramo Óptico da metodologia e a construção do transdutor engloba o Ramo Mecânico. Em ambas as etapas, as decisões de projeto dependem da escolha do material para a fabricação da geometria do prisma - primeira camada do Sistema Multicamadas (ver Figura 2.1) e do metal a ser depositado sobre a superfície do prisma, segunda camada da estrutura multicamadas.

### 3.1 Metodologia do PPBIO: ramo óptico

O *design* do prisma parte das informações sobre o tamanho e focalização dos feixes luminosos descritas na patente de Thirstrup *et al.* [45]. A partir da patente é possível obter as

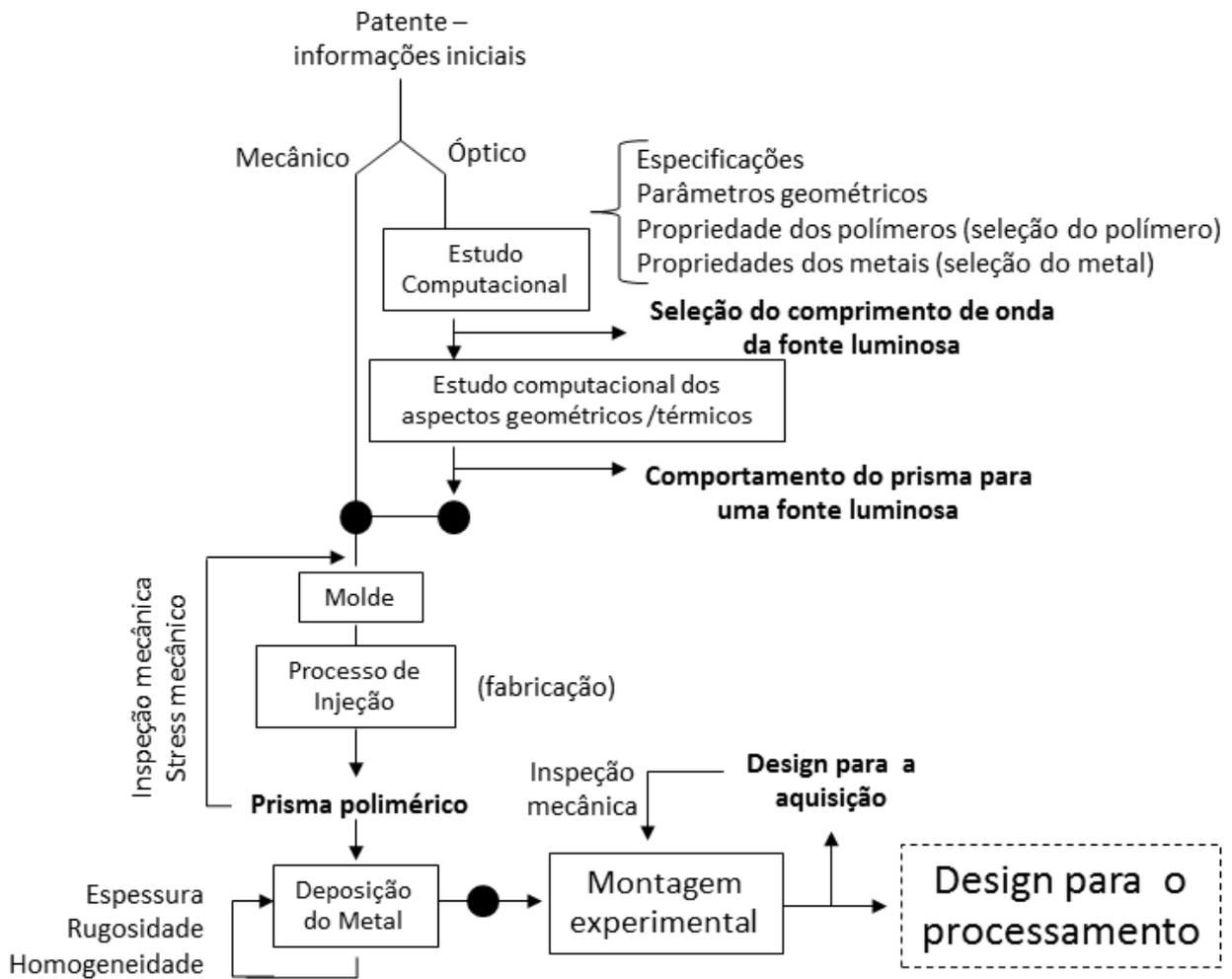


Figura 3.1: Etapas da metodologia para construção do sensor SPR utilizando o PPBIO. Após a manufatura do prisma as escolhas feitas em cada etapa são avaliadas e a análise de sensibilidade verifica a qualidade final do sensor.

especificações do prisma tais como descrição, dimensão e condicionantes operacionais, para então fornecer a geometria detalhada do mesmo - altura, largura e espessura.

A patente idealiza uma única unidade (prisma) que possibilita a excitação do fenômeno SPR. Com isso, tenta envolver áreas parciais do prisma para focalizar os raios de luz. Isso se dá ou por meio de superfícies laterais inclinadas com curvatura convexa ou por prismas implementados de modo que lentes cilíndricas possam ser integradas às áreas da superfície base do prisma para guiar os feixes de luz até atingirem uma das superfícies laterais. A patente também menciona a utilização dessas lentes cilíndricas de forma não integrada ao prisma, isto é, as lentes de focalização ficam externas. Esse *design* é mais facilmente confeccionado se comparado à incorporação das lentes no próprio prisma. Em

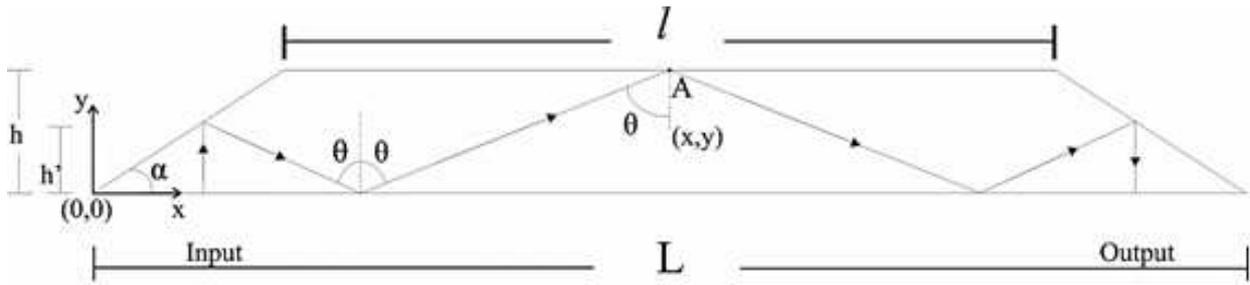


Figura 3.2: Prisma polimérico desenvolvido por Moreira. Os valores utilizados no projeto foram:  $h = 3$  mm,  $L = 26,72$  mm,  $l = 17,84$  mm,  $\alpha = 34^\circ$ ,  $\theta = 68^\circ$  com foco ocorrendo no ponto  $A(10,2,9)$  mm. Fonte [20].

contrapartida, tal estrutura propicia ao feixe luminoso sofrer um desvio maior do que sofreria com as lentes integradas. Assim, dependendo do comprimento focal e das características da lente a ser utilizada, a ocorrência de RIT e a incidência dos feixes luminosos na região sensível pode ser comprometida.

O *design* com lentes externas foi estudado e implementado por Moreira [20]. De início, verificou-se o dimensionamento do prisma (Figura 3.2). Este deve assumir uma forma trapezoidal devido à necessidade de se ter duas superfícies paralelas que permitissem um caminho óptico dos raios luminosos, raios estes que chegam e saem perpendicular à base inferior do prisma, garantindo assim, uma maior facilidade de instrumentação. A distância entre essas superfícies paralelas, a altura do prisma ( $h$ ), não deve exceder 3 mm. Com esse dado em mãos,  $h = 3$  mm, e do fato de que o ângulo de inclinação das paredes laterais ( $\alpha$ ) é metade do ângulo de incidência na superfície de medição ( $\theta$ ),  $\alpha = \theta/2$ , é possível formalizar as dimensões do prisma segundo as equações abaixo:

$$l = 2 \left[ \frac{h}{2 \tan(\alpha)} + \frac{h}{2 \tan(90 - \alpha)} + h \tan(2\alpha) \right] \quad (3.1)$$

$$L = \left[ 1 - \frac{3}{\tan(\alpha)} \right] \quad (3.2)$$

No projeto implementado por Moreira [20] apenas uma lente foi utilizada, sendo esta colocada junto aos feixes de entrada no prisma. Investigou-se o caminho óptico percorrido pela luz, com origem na fonte luminosa e término ao atingir o sensor de imagem, usado no conjunto final que compõe a instrumentação do sensor SPR baseado no prisma. A distância em que a lente se encontra da base inferior do prisma (T), o raio de curvatura

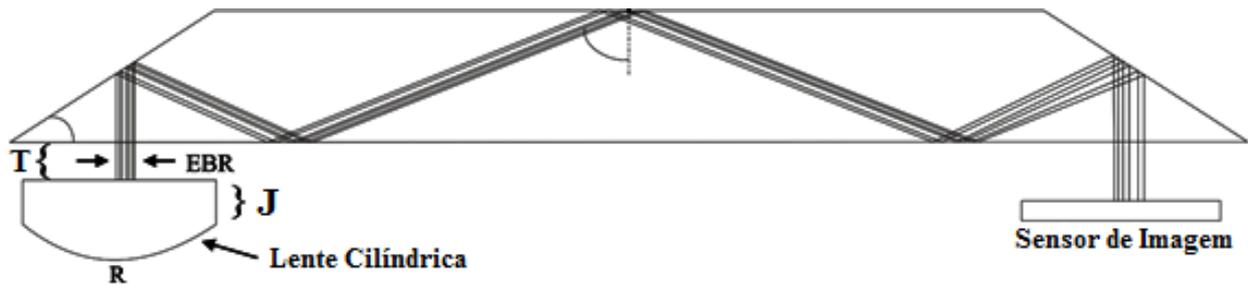


Figura 3.3: Condicionantes operacionais para a lente cilíndrica utilizada para focalizar os feixes luminosos. Os valores utilizados no projeto foram:  $T=5$  mm,  $R=11,2$  mm,  $J=3,9$  mm e  $EBR=0,5$  mm. A distância focal ( $f$ ) da lente utilizada é de 20 mm para  $\lambda=587,6$  nm.

( $R$ ), sua espessura ( $J$ ) e sua distância focal ( $f$ ), ilustradas Figura 3.3, foram investigados. Para o modo AIM os valores ideais encontrados foram:  $T=5$  mm,  $R=11,2$  mm,  $J=3,9$  mm e  $f=15$  mm. No modo WIM investigou-se apenas a abertura do feixe de luz ( $EBR$ ), onde se concluiu que quanto maior o valor de  $EBR$  maior será o foco no centro da superfície de medição.

### Comportamento geométrico e térmico do prisma

Analisando com mais detalhes a geometria do prisma, surge a necessidade de caracterizar como a temperatura influenciará o caminho óptico percorrido pelos feixes luminosos ao atravessarem o prisma. Para isso, no estudo computacional investigou-se o comportamento dos prismas nas temperaturas de  $25^{\circ}\text{C}$ ,  $30^{\circ}\text{C}$  e  $35^{\circ}\text{C}$ , que são próximas à temperatura ambiente, e em  $50^{\circ}\text{C}$  e  $70^{\circ}\text{C}$  que são temperaturas nas quais há aplicações em que o prisma pode ser empregado [46].

Os feixes luminosos atingem a parede lateral do prisma (ponto X2 de acordo com a Figura 3.4) e estarão sujeitos a uma dispersão até atingirem a região central da base superior (X4), aqui chamada de posição focal. Como ilustrado no esquema da Figura 3.4, se essa posição mudar o ângulo de incidência ( $\theta$ ) também mudará e, conseqüentemente, a resposta SPR [47]. A variação de temperatura sofrida pelo prisma afeta a distância percorrida pela luz até atingir a posição X4, também afetando a resposta SPR. Assumindo que os feixes Xi e X2 são perfeitamente colimados, a dispersão (ver Figura 3.4) ocorre de acordo com a seguinte



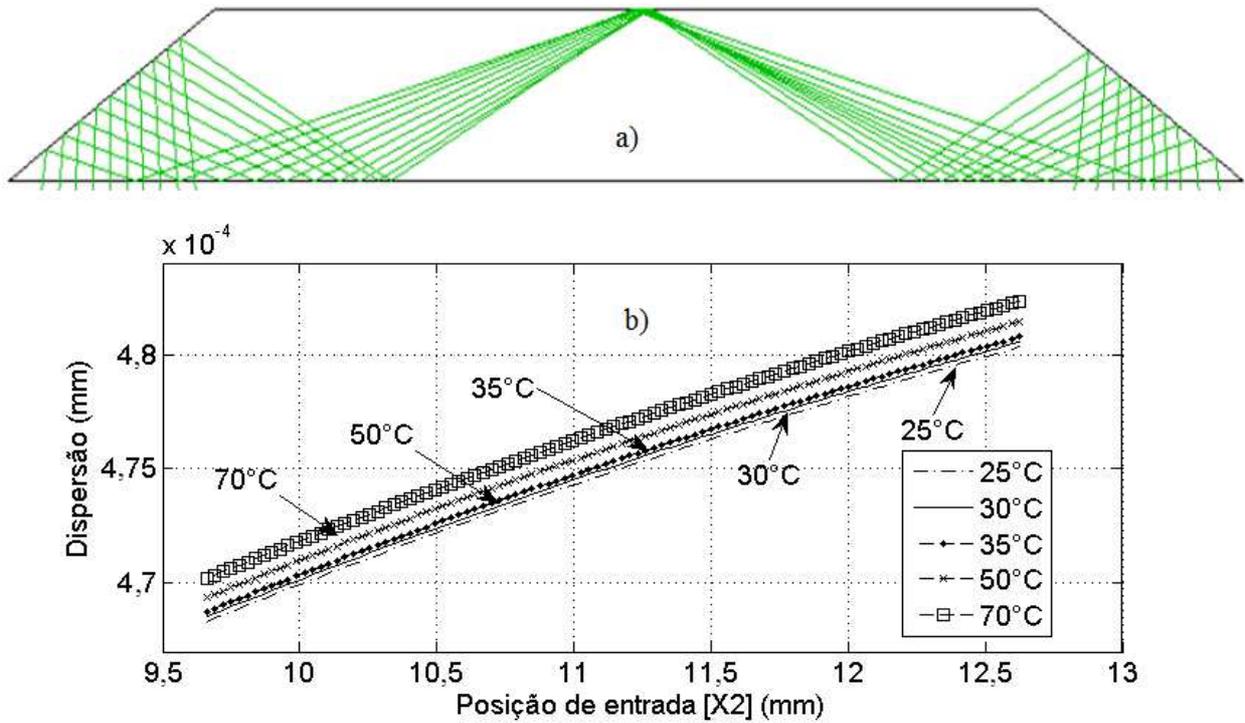


Figura 3.5: a) Representação gráfica da dispersão da luz dentro do PPBIO. Traçado de raios obitdos com o software OSLO Premium para visualização geométrica do caminho da luz dentro do PPBIO e gerado com os parâmetros ópticos apresentados na Figura 3.3, os quais focalizam a luz no centro da superfície superior do prisma. Fonte [20]. b) Gráfico da variação da dispersão em função da posição de entrada para diferentes temperaturas.

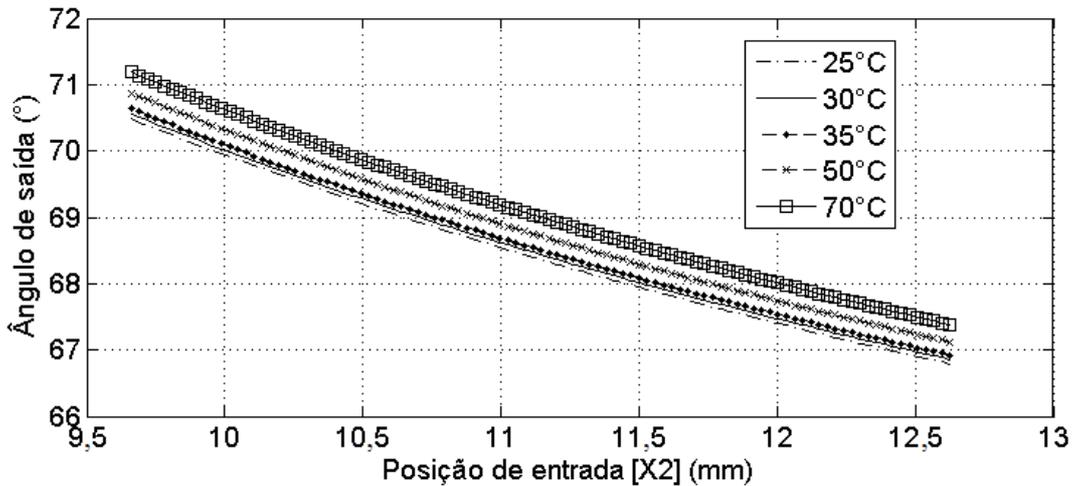


Figura 3.6: Gráficos da variação do ângulo de ressonância em função da posição de entrada para diferentes temperaturas.

feixes na outra superfície inclinada do prisma (X6) é dado por:

$$X6 = X2 - \frac{2D(1 + \gamma\Delta T)}{\sqrt{\left(\frac{n_1(1+\kappa\Delta T)}{\frac{\lambda}{a(X2)}}\right)^2 - 1}} \quad (3.5)$$

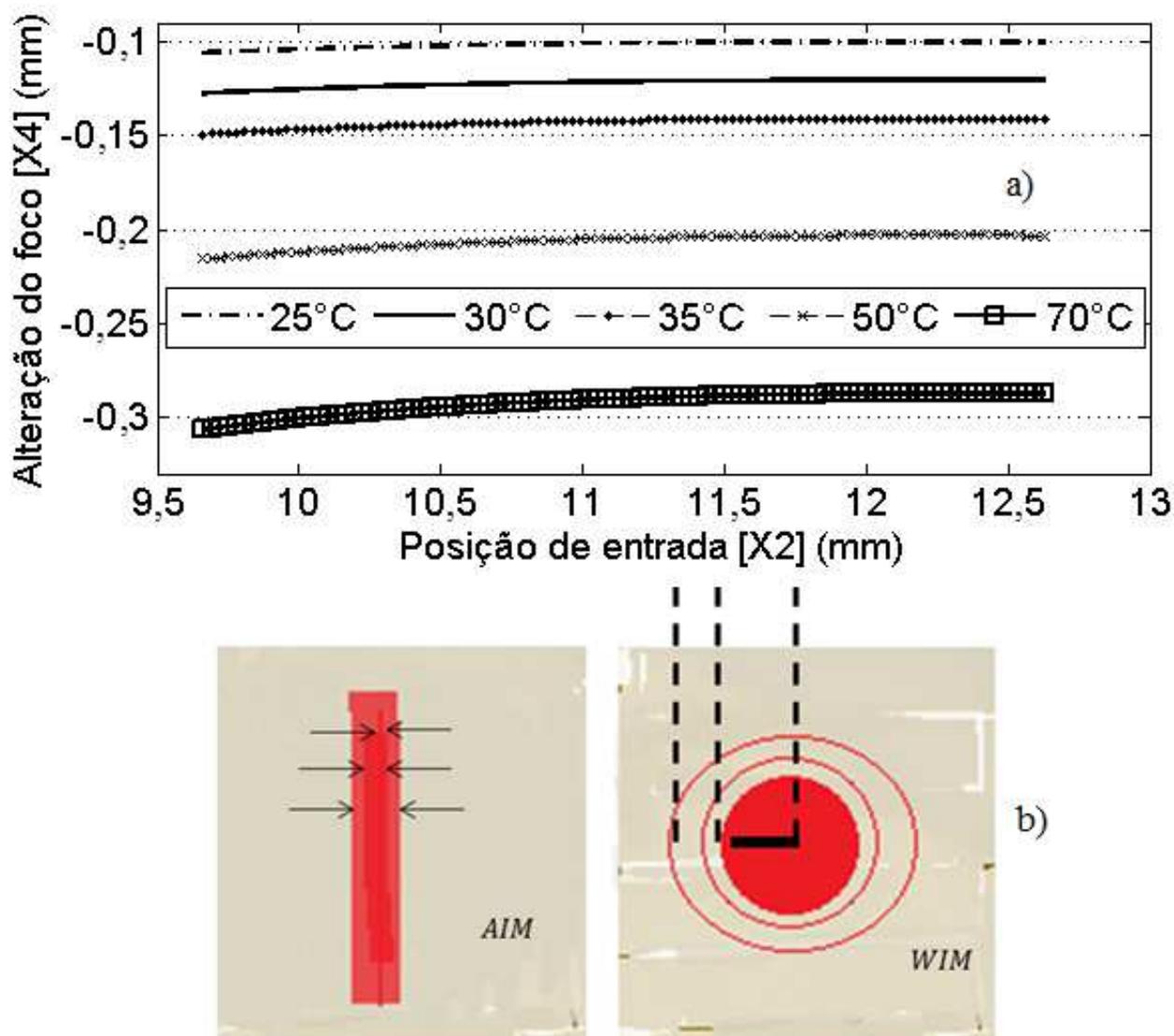


Figura 3.7: a) Variação da espessura do foco em função da posição de entrada para diferentes temperaturas b) Ilustração do comportamento do foco nos modos AIM e WIM com o aumento da temperatura (vista superior do prisma).

Considerando que o prisma óptico expande/comprime do centro para as extremidades, as mudanças na posição X4 produzirão focos borrados, conforme Figura 3.7, enquanto as mudanças em X6 (assumindo a perfeita colimação e perpendicularidade dos feixes de saída X6 e a posição em que atingem o sensor de imagem X8) afetam o valor do ângulo de ressonância medido pelo detector óptico (ver Figura 3.6).

As Figuras 3.5, 3.6 e 3.7 mostram como a temperatura afeta o comportamento da luz no prisma fornecendo diretrizes para o seu projeto e otimizações, a exemplo do alinhamento óptico preciso entre o prisma e as demais partes. Para esses gráficos, o valor do coeficiente

térmico de expansão utilizado foi de  $\gamma = 8 \times 10^{-5}$  mm/°C, a taxa de variação do índice de refração foi  $\kappa = -1,3 \times 10^{-4}/^\circ\text{C}$  para o prisma manufaturado com um polímero COC (Cyclic-Olefin Copolymer).

Para feixes perfeitamente colimados, a faixa de ângulo do caminho óptico da luz dentro do prisma vai de 62° a 73°, calculadas pelas expressões:

$$\theta_{min} = \arctan\left(\frac{D_{X2\_min}}{h'_{max} + h}\right), \quad \theta_{max} = \arctan\left(\frac{D_{X2\_max}}{h'_{min} + h}\right) \quad (3.6)$$

Essa faixa angular é utilizada na definição do ponto de operação para o par substrato/metal, orientando o alinhamento geométrico da montagem do sensor e na relação pixel *vs.* ângulo.

### Seleção dos substratos

No estudo computacional também são levados em consideração as propriedades ópticas dos substratos para confecção dos prismas. A relação de dispersão de Sellmeier fornece a variação do índice de refração (parâmetro óptico) de um determinado vidro ou polímero em função do comprimento de onda e pode ser expressa da forma [48]:

$$n^2(\lambda) = 1 + \left(\frac{B_1\lambda^2}{\lambda^2 - C_1}\right) + \left(\frac{B_2\lambda^2}{\lambda^2 - C_2}\right) + \left(\frac{B_3\lambda^2}{\lambda^2 - C_3}\right), \quad (3.7)$$

em que os coeficientes  $B_i$  e  $C_i$ , com  $i=1,2$  e  $3$ , variam com o tipo de material. A Figura 3.8 apresenta a relação de Sellmeier para alguns substratos ópticos, todos possíveis de serem utilizados para fabricação do prisma.

O índice de refração dos vidros/polímeros não é somente dependente do comprimento de onda, mas também depende da temperatura. A relação entre a variação do índice de refração para a variação de temperatura, denotado por coeficiente de temperatura de variação do índice de refração (ou a taxa de variação do índice de refração,  $\kappa$ ) é expresso por [49]:

$$\frac{dn(\lambda,T)}{dT} = \frac{n^2(\lambda,T_0) - 1}{2n(\lambda,T_0)} \left( D_0 + eD_1\Delta T + 3D_2\Delta T^2 + \frac{E_0 + 2E_1\Delta T}{\lambda^2 - \lambda_{TK}^2} \right), \quad (3.8)$$

sendo  $T_0$  é a temperatura de referência (temperatura ambiente),  $\Delta T$  é a diferença de temperatura entre  $T$  e  $T_0$  e os valores  $D_0$ ,  $D_1$ ,  $D_2$ ,  $E_0$ ,  $E_1$  e  $\lambda_{TK}$  são constantes que dependem do material.

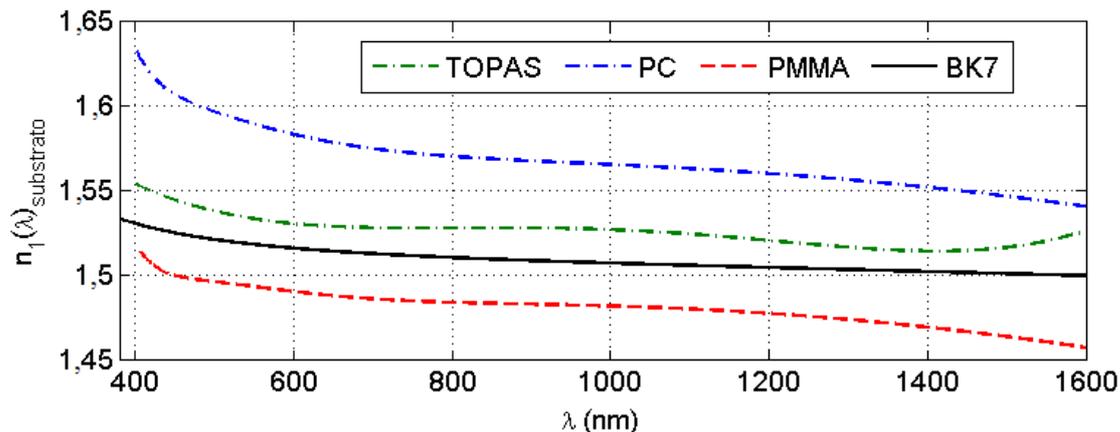


Figura 3.8: Índice de refração em função do comprimento de onda para diferentes materiais usados como substrato dielétrico (TOPAS, PC, PMMA e BK7s).  $n_{PC} > n_{TOPAS} > n_{BK7} > n_{PMMA}$ .

Para o caso dos polímeros, também são considerados seus parâmetros mecânicos tendo em vista que estes serão submetido a um processo de fabricação que pode causar birrefringência (ver Capítulo 4) e afetar sua utilização na excitação do fenômeno SPR.

A escolha do substrato se dar por conveniências de facilidade de manufatura, disponibilidade do material no mercado e preço mas, necessariamente, o substrato deve ser o mais transparente possível (transmitância  $\approx 100\%$ ) na faixa de comprimento de onda desejada. Para confecção dos prisma quatro materiais foram utilizados, sendo três polímeros (PC, PMMA e TOPAS) e um vidro (BK7).

### Seleção dos metais

A escolha do material para manufatura do PPBIO restringe a faixa de comprimento de onda da fonte de luz que poderá ser utilizada para excitação do fenômeno SPR. Dessa forma, a função dielétrica complexa (CDF) dos metais é usada no estudo computacional para a faixa de operação do respectivo substrato.

Majoritariamente usados na transdução de interações biomoleculares em soluções aquosas, os sensores SPR são desenvolvidos com metais de baixa reatividade a oxirredução, sendo o ouro o metal mais empregado. Não obstante, uma vez que os plasmons originam-se das oscilações dos elétrons livres do material iluminado com a luz, metais com baixas perdas - resultantes da transição eletrônica dos níveis de energia - também são utilizados. O regime

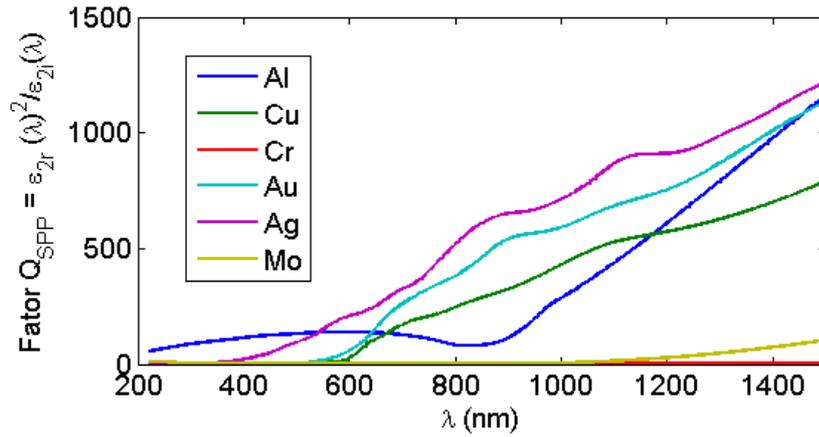


Figura 3.9: Gráfico para o Fator Q expresso em termos relação da  $\epsilon_{2r}(\lambda)^2/\epsilon_{2i}(\lambda)$ . Prata, ouro, cobre e alumínio exibem regimes de baixas perdas no espectro da luz visível.

de baixa perda pode ser caracterizado pela relação abaixo [50], denominada de Fator Q:

$$\frac{|\epsilon_{2i}|\epsilon_3}{2\epsilon_{2r}(\epsilon_{2r} + \epsilon_3)} \ll 1. \quad (3.9)$$

O Fator Q também pode ser expresso em termos da função dielétrica do metal, através do quociente  $\epsilon_{2r}(\lambda)^2/\epsilon_{2i}(\lambda)$ . Como apresentado na Figura 3.9, na região do espectro visível, o ouro, a prata, o cobre e o alumínio possuem altos valores para o Fator Q, característica do regime de baixa perda [51]. Nota-se pelos gráficos da Fig.3.9 que para  $\lambda < 500$  nm o alumínio possui a menor perda (maior valor do Fator Q). Na região  $500 \text{ nm} < \lambda < 1000$  nm, a prata é o metal com menores perdas associadas à absorção intrínseca do material.

Não obstante, as propriedades óptico-elétricas dos metais nas frequências compreendidas entre o ultravioleta e o infravermelho são imprecisamente descritas pelas expressões da Aproximação de Drude (D.A.). Imprecisões devido à dinâmica dos níveis de energia, especialmente a atenuação oriunda da parte imaginária da função dielétrica do metal ( $\epsilon_{2i}$ ), varia consideravelmente com a frequência ou comprimento de onda e, eventualmente, estes são os comprimentos de ondas que modulam a condição de ressonância bem como as propriedades ópticas próximas a ressonância dos plasmons de superfície. A Figura 3.10 apresenta, como exemplo dessa imprecisão, uma comparação entre CDF do alumínio obtida experimentalmente e a através da aproximação de Drude.

Tentativas de formular expressões mais aproximadas para as propriedades óptico-elétricas

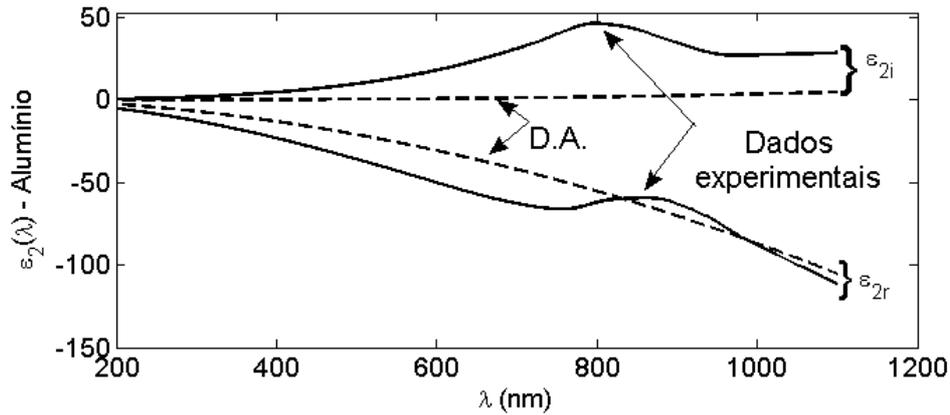


Figura 3.10: Dependência da função dielétrica do metal para o comprimento de onda. Observa-se diferença entre a CDF do Alumínio obtida por intermédio da D.A. (linhas traço-ponto) e da CDF determinada experimentalmente (linhas sólidas).

dos metais podem ser encontradas na literatura a exemplo destas citações [52, 53]. As imprecisões da CDF são compensadas nesse trabalho por meio da Análise de Fresnel (AF) em um sistema multicamadas, conforme descrito nas eqs. (2.17) a (2.20), de modo que a condição de ressonância é analisada para a função dielétrica do metal através de dados experimentais.

A variação de temperatura afeta o comportamento dos SPs no metal, uma vez que provoca uma mudança na função dielétrica. Com relação a frequência dos plasmons,  $\omega_p$ , seu comportamento em função da temperatura pode ser expressa por [54]:

$$\omega_p(T) = \omega_p(T_0)[1 + 3\gamma(T - T_0)]^{-1/2} \quad (3.10)$$

em que  $\gamma$  representa o coeficiente linear de expansão térmica. Com relação a frequência de colisão dos plasmons,  $\omega_c$ , esta é composta pelas interações elétron-elétron ( $\omega_{ce}$ ) e elétron-fóton ( $\omega_{cf}$ ), ambas dependentes da temperatura e de modo que  $\omega_c = \omega_{ce} + \omega_{cf}$ . O modelo de Lawrence [54, 55] prevê a dependência à temperatura da interação elétron-elétron, e é dado por:

$$\omega_{ce}(T) = \frac{\pi^3 \Gamma \Delta}{12 \hbar E_f} \left[ (k_B T)^2 + \left( \frac{\omega}{2\pi} \right)^2 \right] \quad (3.11)$$

com  $\Gamma$  representando a constante de probabilidade para o espalhamento das partículas sobre a superfície de Fermi,  $\Delta$  é o espalhamento fracionado,  $\hbar$  é a constante de Fermi,  $E_F$  é a

energia de Fermi,  $k_B$  é a constante de Boltzmann e  $\omega$  é a frequência da luz incidente.

A dependência à temperatura da interação elétron-fóton pode ser calculada pelo modelo de Holstein [54, 55] da forma:

$$\omega_{cp}(T) = \omega_0 \left[ \frac{2}{5} + \frac{eT^5}{\theta_D} \int_0^{\theta_D/T} \frac{z^4}{e^z - 1} dz \right] \quad (3.12)$$

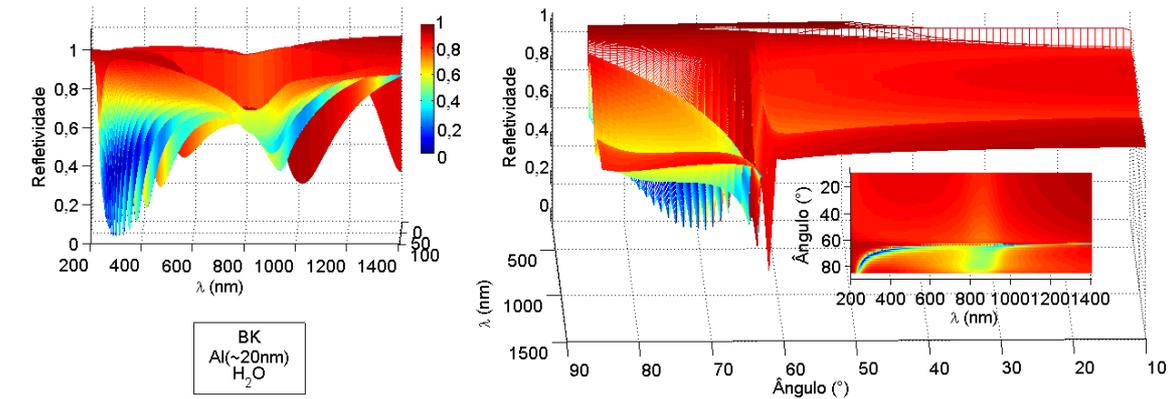
em que  $\omega_p$  é uma constante e  $\theta_D$  é a temperatura Debye. O aprofundamento desse tópico pode ser realizado com a leitura de [54–57]. Além dos valores da função dielétrica, detalhes como a continuidade da camada metálica, espessura [58, 59] e rugosidade [60] afetam diretamente a qualidade da resposta SPR.

## 3.2 Resposta SPR

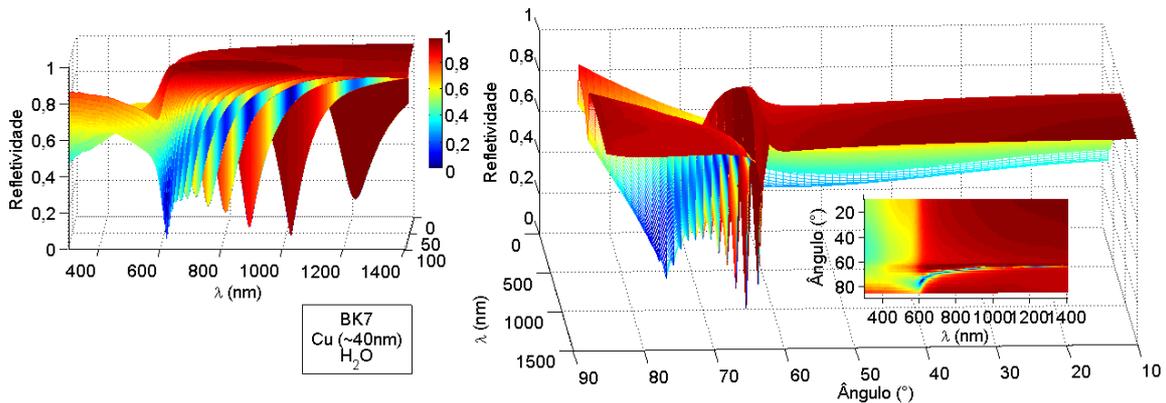
A caracterização do transdutor SPR com estrutura multicamadas é realizada primeiramente para o modo WIM devido a influência do comprimento de onda nas propriedades ópticas dos materiais. A análise de Fresnel para o modo espectral é realizada e as frequências plasmônicas, i.e. os comprimentos de ondas de ressonância ( $\lambda_{res}$  ou  $\lambda_R$ ), são calculadas.

Com os valores de  $\lambda_R$  encontrados na simulação WIM, procede-se com a AF no modo angular. Para os pares substrato/metal calcula-se o ângulo plasmônico, i.e. o ângulo de ressonância ( $\theta_{res}$  ou  $\theta_R$ ), o qual espera-se que seja igual ao ângulo em que se obteve o comprimento de onda utilizado. Em ambas as situações a água deionizada e desgaseificada [61] é utilizada como a substância em análise.

Após as análises quando apenas água é o analito em contato com a superfície metálica, para um único par  $\lambda - \theta$  do arranjo substrato/metal, simula-se a situação de mudança do analito. Para tanto, utiliza-se variações no índice de refração do analito ( $n_3$ ) que na prática simulam a adesão de moléculas na superfície metálica ou uma mudança de concentração da substância em análise, ou mesmo uma interação de um antígeno a um anticorpo imobilizado na superfície metálica. Tais variações ficam entre  $1,33 \leq n_3 \leq 1,39$ , com incrementos de  $5 \times 10^{-3}$  RIU (*Refractive Index Unit*) e espessura  $d_3=300$  nm, para os dois modos de interrogação. Esta variação é suficiente para a maioria das aplicações SPR listadas na Introdução do presente trabalho.



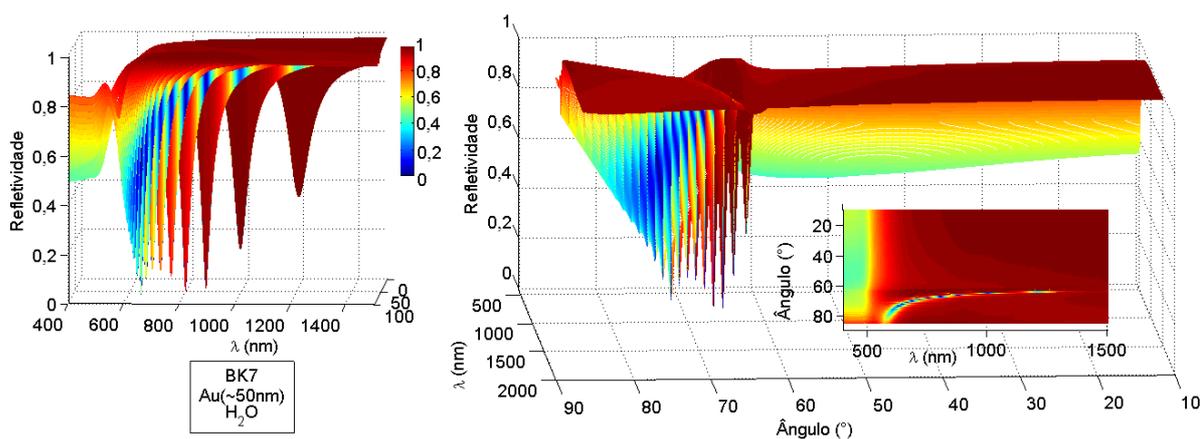
a) Multicamada formada por: BK7/Alumínio/H<sub>2</sub>O



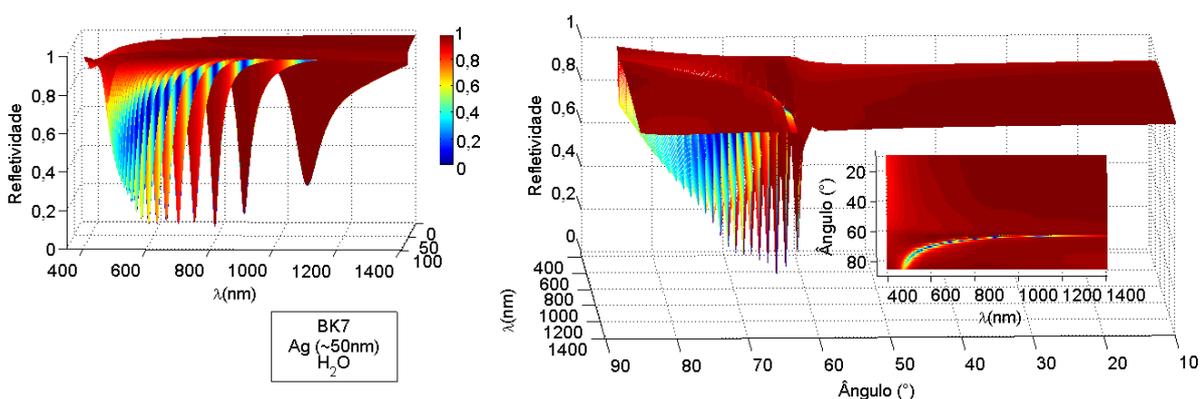
b) Multicamada formada por: BK7/Cobre/H<sub>2</sub>O

Figura 3.11: Curva SPR para diferentes valores de comprimento de onda e de ângulo. Interfaces a) Al/água e b) Cu/água. Acoplamento óptico para ângulos maiores que 60°. Vistas: Refletividade x  $\lambda$  (esquerda), Refletividade x  $\lambda$  x Ângulo (direita) e Ângulo x  $\lambda$  (subgráfico)

Para definição dos ângulos de incidência, verificou-se o acoplamento óptico para um substrato de vidro e as interfaces entre os metais (Au, Ag, Cu e Al) e a água. Nota-se pelos gráficos das Figuras 3.11 e 3.12 que para uma solução aquosa a excitação dos SPs ocorre apenas para ângulos  $>60^\circ$ . Dessa forma, a análise da resposta SPR para os pares substrato/metal foram realizadas para os seguintes ângulos de incidência:  $58^\circ$ ,  $63^\circ$ ,  $68^\circ$ ,  $71^\circ$  e  $75^\circ$ . Os ângulos  $63^\circ$ ,  $68^\circ$  e  $71^\circ$  enquadram-se na faixa angular da geometria do PPBIO, conforme eq. (3.6) e são suficientes para averiguar a resposta do PPBIO. Os ângulos  $58^\circ$  e  $75^\circ$  foram escolhidos para completar a análise, sendo um ângulo que está fora da excitação dos SP e outro por estar acima da faixa geométrica do prisma, respectivamente.



a) Multicamada formada por: BK7/Ouro/H<sub>2</sub>O



b) Multicamada formada por: BK7/Prata/H<sub>2</sub>O

Figura 3.12: Curva SPR para diferentes valores de comprimento de onda e de ângulo. Interfaces a) Au/água e b) Ag/água. Acoplamento óptico para ângulos maiores que 60°. Vistas: Refletividade x  $\lambda$  (esquerda), Refletividade x  $\lambda$  x Ângulo (direita) e Ângulo x  $\lambda$  (subgráfico)

Para cada par substrato/metal escolhido para a análise de variação do analito, calcula-se a figura de mérito sensibilidade e a influência da espessura o metal na resposta SPR. A relação entre a sensibilidade e o ângulo de incidência é apresentada na Figura 3.13. Para um comprometimento entre faixa de operação geométrica e faixa de variação de índice de refração detectável (i.e. a faixa de resposta dinâmica do sensor SPR), o ângulo de 68° foi escolhido para caracterização da resposta SPR, ver seção **Ponto de Operação**.

Para os metais Au, Ag, Cu e Al calcula-se a detectividade, verifica-se a influência destes na resposta do sensor SPR e investiga-se a qualidade dos detectores ópticos necessários para cada arranjo, ver seção **Sensibilidade e Detectividade**.

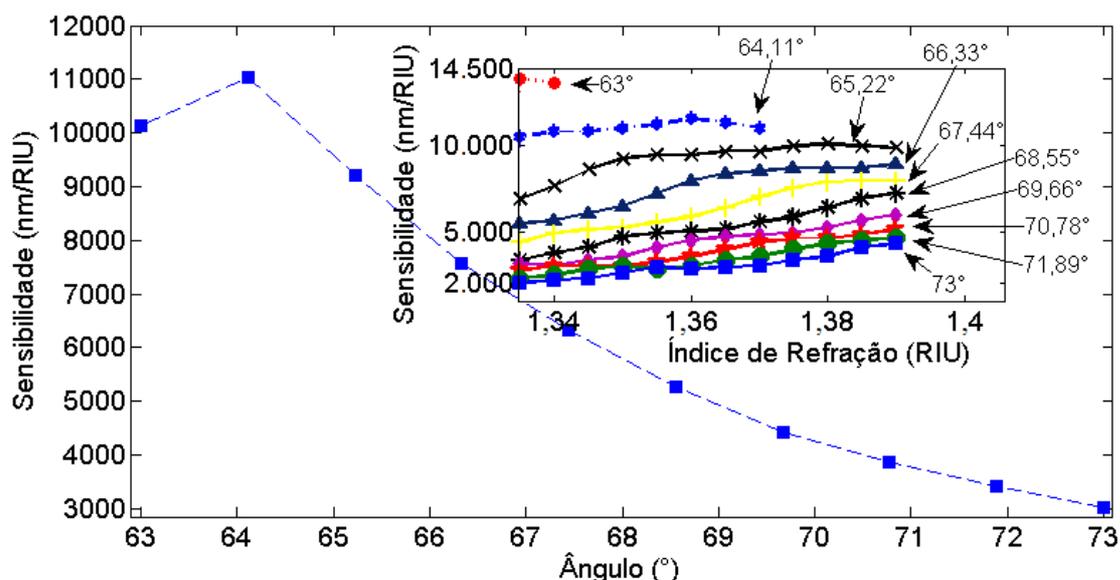


Figura 3.13: Sensibilidade espectral em função do ângulo de incidência. Subgráfico para a sensibilidade espectral em função do índice de refração para os diversos ângulos. Os valores foram calculados para o par BK7/Ag.

### Ponto de operação

Todos os condicionantes que fornecem o par  $\lambda - \theta$  em que ocorre a SPR é denominado de Ponto de Operação (OP) [62]. O *design* do prisma apresentado na Figura 3.2 prevê que o ângulo de incidência do feixe luminoso que atinge a superfície sensível seja de 68°. Neste caso, a condição de ressonância ocorre em  $677 \pm 5$  nm quando apenas água deionizada e degaseificada flui sobre a camada metálica, proporcionando assim,  $n_3 = 1,331$  RIU a temperatura ambiente. Essa condição descreve o ponto de operação quando o polímero TOPAS é empregado como substrato óptico e a camada metálica é uma película fina de ouro com 50 nm de espessura. O OP para os demais pares serão obtidos através da AF.

### Sensibilidade e Detectividade

A sensibilidade (ou responsividade) e a detectividade são figuras de mérito importantes para qualquer dispositivo de detecção e são utilizadas para verificar a qualidade da multicamada para um determinado OP. Em sensores baseados na SPR a sensibilidade também depende da afinidade da interação molecular e da massa do analito, mas na prática, a sensibilidade expressa a capacidade do sistema SPR detectar variações de índice de refração (ou densidade

de massa) na superfície do metal. Dessa forma, tem-se:

- A sensibilidade no modo AIM ( $S_\theta$ ): é a razão entre a variação do ângulo de ressonância  $\Delta\theta_R$  com a variação do índice de refração do analito  $\Delta n_3$ , da forma:  $S_\theta = \Delta\theta_R/\Delta n_3$ .

Se a parte imaginária da função dielétrica do metal é suficientemente pequena, uma expressão analítica para  $S_\theta$  pode ser derivada a partir de (2.18):

$$S_\theta = \frac{\epsilon_{2r}\sqrt{-\epsilon_{2r}}}{(\epsilon_{2r} + n_3^2)\sqrt{\epsilon_{2r}(n_3^2 - n_1^2)} - n_3^2 n_1^2} \quad (3.13)$$

$S_\theta$  é tipicamente uma função não linear sobre todas as variáveis. Essa expressão é suficientemente precisa para os metais nobres Au, Ag e Cu, entretanto, o negligenciamento da parte imaginária da função dielétrica é inapropriado para a maioria dos outros metais e a aproximação (3.13) não é aplicável.

- A sensibilidade no modo WIM ( $S_\lambda$ ): é a razão entre a variação do comprimento de onda de ressonância  $\Delta\lambda_R$  com a variação do índice de refração do analito  $\Delta n_3$ , da forma:  $S_\lambda = \Delta\lambda_R/\Delta n_3$ .

Como no modo WIM há a variação de  $\lambda$  e que os parâmetros ópticos dependem do comprimento de onda,  $S_\lambda$  deve ser calculado para o comprimento de onda de ressonância ( $S_\lambda = (\Delta\lambda/\Delta n_3(\lambda))|_{\lambda=\lambda_R}$ ) levando em consideração a influência do metal e do substrato na resposta SPR:

$$\frac{\Delta\lambda}{\Delta n_3} = \frac{\Delta n_3}{\Delta\epsilon_2} \frac{\Delta\epsilon_2}{\Delta\lambda} + \frac{\Delta n_3}{\Delta\epsilon_1} \frac{\Delta\epsilon_1}{\Delta\lambda} \quad (3.14)$$

Com relação a detectividade, esta permite quantificar a qualidade da resposta do instrumento de medição SPR, independente do modo de operação. Esse parâmetro quantifica a qualidade dos materiais empregados por meio da sensibilidade e a qualidade da resposta do detectores óptico-elétrico ( $\langle v_\theta \rangle$  e/ou  $\langle v_\lambda \rangle$ ) usados no (bio)sensor SPR. É matematicamente expressa para o modo WIM e AIM, respectivamente, por:

$$D_\theta = S_\theta / \langle v_\theta \rangle, \quad D_\lambda = S_\lambda / \langle v_\lambda \rangle \quad (3.15)$$

em que  $\langle v_\lambda \rangle$  é a resolução associado ao detector utilizado no modo WIM (espectrômetro) e  $\langle v_\theta \rangle$  ao detector do modo AIM (câmera CCD ou CMOS).

### Critérios de classificação

Tendo em visto o efeito da temperatura nos aspectos relacionados ao desenvolvimento de sensores SPR, a AF é realizada para temperatura fixa. A temperatura para a qual a CDF dos metais e a Dispersão dos substratos (sólidos e líquidos) foram obtidas é de  $22 \pm 2^\circ\text{C}$ .

Os resultados obtidos permitem estabelecer a fonte de luz, o tipo do detector óptico e a qualidade dos algoritmos, para assim, classificar a excitação dos SP para cada metal. A interpretação da resposta SPR possibilita tal classificação. Situações em que a condição de ressonância, visualmente expressa pela curva SPR, ocorre em comprimentos de onda entre 330 nm até 880 nm, para ângulos menores que  $71^\circ$ , com boa profundidade ( $r \simeq 0$ ) e largura pequena ( $FWHM(\theta) \leq 8 \pm 2^\circ$  ou  $FWHM(\lambda) \leq 120 \pm 30$  nm) caracterizam uma **boa** resposta SPR. Multicamada cuja resposta possua apenas bons resultados para  $\lambda_R$  ou  $\theta_R$ , tendo a profundidade e largura resultados ruins, normalmente apresentam baixa sensibilidade. Desse modo, exige que os algoritmos de processamento e extração dos parâmetros de interesse sejam capazes de compensar a baixa variação de  $\lambda_R$  e/ou  $\theta_R$  em função da variação de  $n_3$ .

Para a condição de ressonância ocorrendo em comprimentos de onda abaixo de 330 nm ou acima de 880 nm faz-se necessário fonte de luz fora do espectro visível para excitação do fenômeno e detector óptico apropriado para capturar a luz refletida. Mesmo que o ângulo de incidência, profundidade e largura possuam os valores desejados, classificam-se tais multicamadas como de **moderada** resposta SPR devido ao tipo de fonte luz e de detector óptico necessário. As mesma classificação é dada para a multicamada em que a condição de ressonância ocorre para ângulos maiores que  $71^\circ$ , pois dificultam o posicionamento dos elementos que compõem a instrumentação óptica. Para multicamadas cuja condição de ressonância ocorre em posições de  $\lambda$  e  $\theta$  de difícil instrumentação e ainda possuem baixa qualidade nos demais parâmetros, estas caracterizam-se por uma resposta SPR **ruim**. Vale salientar que os modos AIM e WIM são independentes, podendo uma multicamada ter bom resultado em um modo e um resultado ruim ou moderado no outro.

A seguir, é apresentado o estudo computacional para as interfaces substrato/metal/análito, amostra investigadas. O software Matlab foi utilizado para o cálculo das respostas SPR.

### 3.2.1 Filmes finos de Alumínio

A função dielétrica complexa  $\epsilon_2(\lambda) = \epsilon_{2r}(\lambda) + j\epsilon_{2i}(\lambda)$  do metal fracamente paramagnético está ilustrada na Figura 3.14. Os valores experimentais foram obtidas de [63–65]. A aproximação de Drude, eq. (3.9), calculada para os valores  $\lambda_p=1,0657 \times 10^{-7} \text{m}$  e  $\lambda_c=2,4511 \times 10^{-5} \text{m}$  [30], também é apresentada na figura. A CDF pode ser parcialmente aproximada pelo modelo de Drude. O valor de  $\epsilon_2(\lambda)$  decresce de forma constante até próximo de  $\lambda = 800 \text{ nm}$ , região na qual  $\epsilon_{2R}(\lambda)$  e  $\epsilon_{2I}(\lambda)$  revelam uma característica proeminente. Tal característica é originada devido a transição inter-banda, a qual não é considerada pelo modelo de Drude.

A função dielétrica do metal desempenha um papel importante na qualidade do sensor SPR uma vez que a parte real descreve a força da SPP, induzida pelo campo elétrico da luz incidente, e a parte imaginária descreve as perdas inerentes ao material. No entanto, quando a espessura de um filme metálico é comparável ao comprimento de onda de elétrons na energia de Fermi, tem-se uma discretização dos estados eletrônicos de energia, levando as propriedades dos filmes serem fortemente dependentes da espessura [66].

Para filmes de alumínio, camada de óxido de alumínio é formada espontaneamente a pressões e temperaturas ambientes e também determina as propriedades do alumínio [67]. A Figura 3.15 apresenta a resposta SPR para diferentes representações da CDK, com e sem

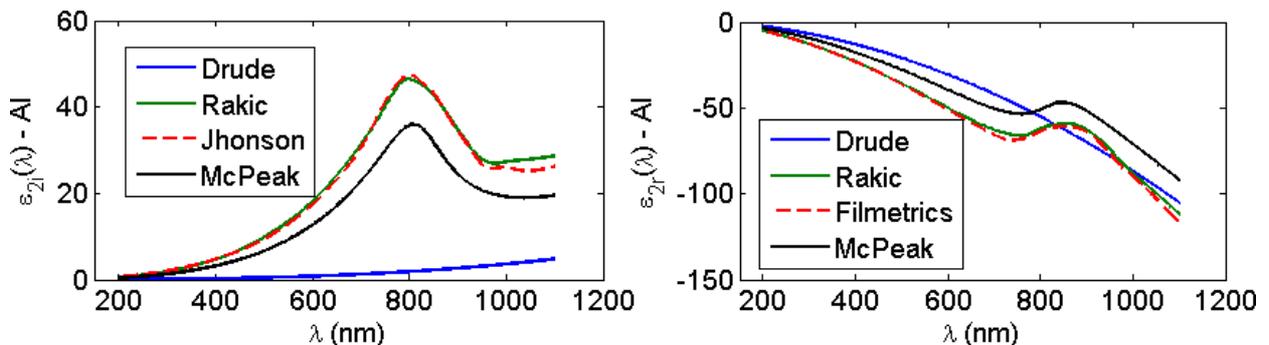


Figura 3.14: Função dielétrica complexa do Al. Parte real e imaginária para diferentes representações. Ver-se que CDF experimental não é aproximada pela D.A.

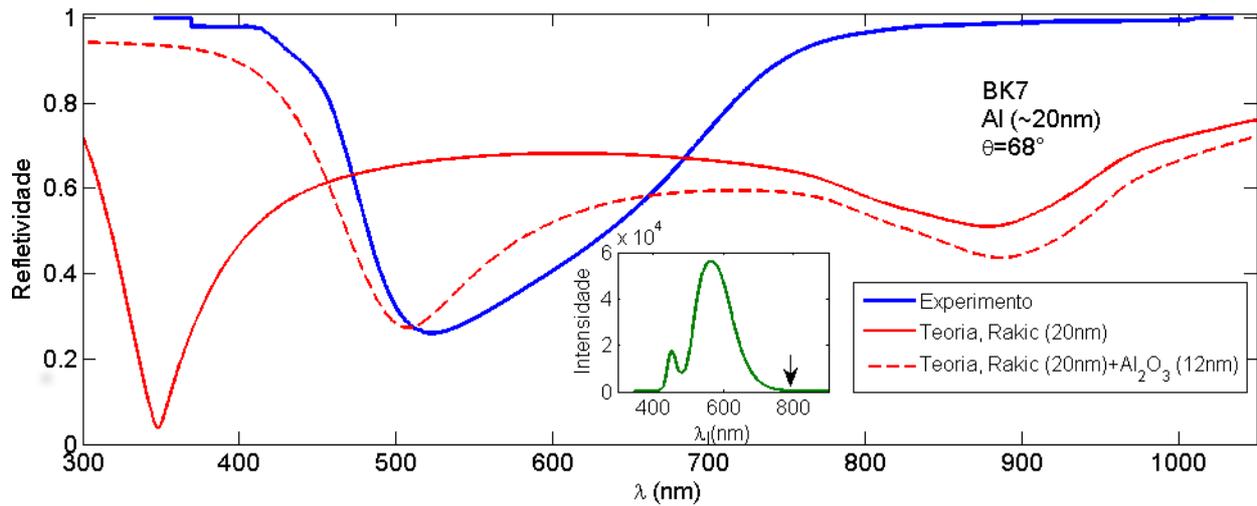


Figura 3.15: Variação da resposta SPR para diferentes representações da função dielétrica  $\epsilon_2(\lambda)$  do alumínio. Curvas com e sem camada de oxidação. A resposta experimental é mais semelhante à curva representada por Rakic na presença de oxidação. Detalhe (subgráfico em verde) para o perfil espectral da fonte de luz.

camada de oxidação. A curva SPR experimental assemelha-se em valores de  $\lambda_R$ ,  $FWHM$  e profundidade/contraste à curva SPR para a CDF experimental na presença de oxidação. Vale salientar que devido ao espectro de emissão da fonte de luz utilizada não foi observado o segundo valor de mínimo na curva SPR experimental. Como as CDFs experimentais revelam poucas diferenças entre si, escolheu-se os dados de Rakic acrescido da camada de oxidação para representar a propriedade óptica do filme de alumínio.

As distribuições espectral da refletividade  $r(\lambda)$  no modo WIM são apresentadas na Figura 3.16. Para a maioria dos substratos  $r(\lambda)$  exhibe o SPR *splitting*. SPR *splitting* consiste na dupla excitação dos SPs em baixos (Sw) e longos (Lw) comprimentos de onda, ambas pertencentes ao ramo de distribuição simétrico da dispersão de  $k_{SP}$  [32]. A característica da existência da SPR é mais evidente para o substrato de BK7. Já o substrato PC, aparentemente não é adequado para excitação dos plasmons de superfície.

O comportamento do sensor SPR com filmes de alumínio torna-se mais evidente quando se observa a distribuição angular da refletividade  $r(\theta)$  no modo AIM. Como apresentada na Figura 3.17, a multicamada PC/Al/H<sub>2</sub>O possui baixa profundidade/contraste da curva SPR caracterizando um fraco acoplamento óptico. Os demais substratos possuem boas respostas, sendo então aplicáveis no desenvolvimento do sensor SPR.

A característica de detecção das estruturas multicamadas no modo WIM é apresentada

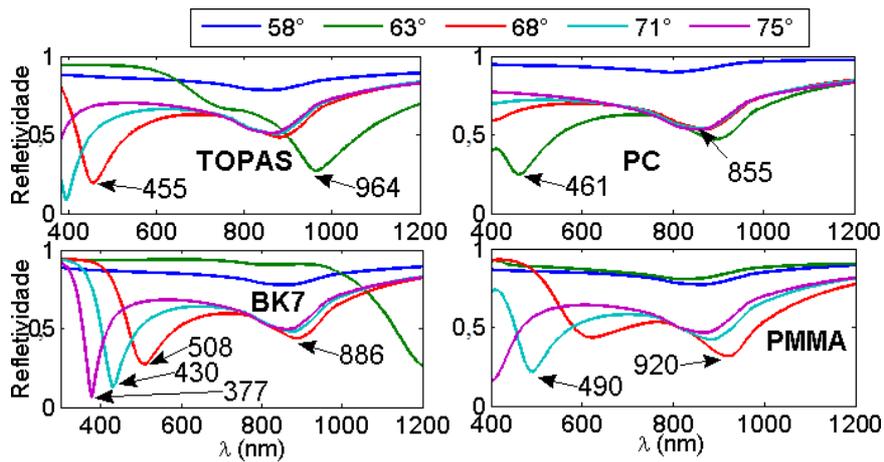


Figura 3.16: Curvas SPR no modo WIM para os substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Ângulos de incidência fixados em 58°, 63°, 68°, 71° e 75° para faixa de comprimentos de onda de 400 nm <  $\lambda$  < 1400 nm. Resposta WIM para filmes de alumínio com espessura de 20 nm em contato com água deionizada e degaseificada.

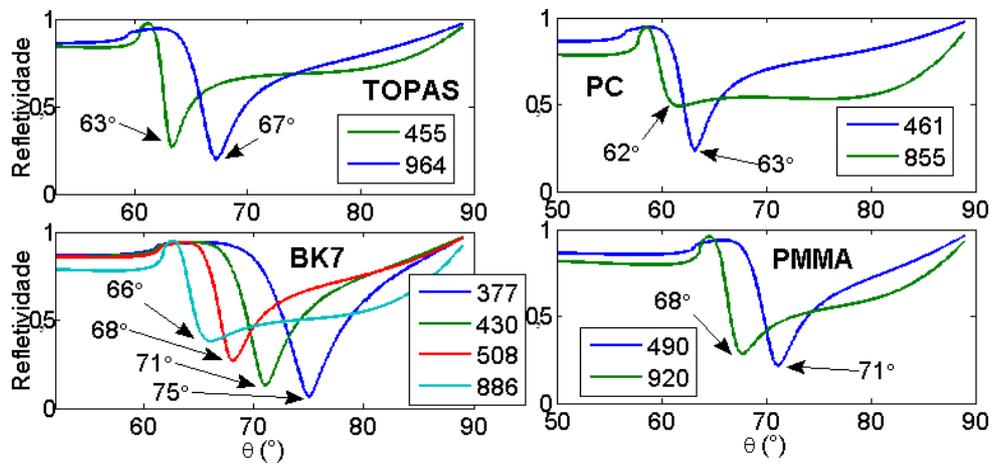


Figura 3.17: Curvas SPR no modo AIM para os substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Gráficos para diferentes comprimentos de onda, indicados na figura, para faixa de ângulo de 50° <  $\theta$  < 80°. Resposta AIM para filmes de alumínio com 20 nm em contato com a água deionizada e degaseificada.

na Figura 3.18 para o ângulo de incidência fixo em 68°. Duas ressonâncias, ou seja, o efeito de *splitting* SPR em curtos (Sw) e longos (Lw) comprimentos de onda são resolvidos. Para o substrato de BK7, a posição de ressonância no Sw inicia-se em 500 nm para 1,33 RIU e no Lw em 886 nm. PMMA possui valores de Sw para índices de refração abaixo de 1,35. A profundidade/contraste de penetração para ambas as ressonâncias varia de modo oposto ao incremento do valor de RIU do analito.

Os parâmetros comprimentos de onda de ressonância ( $\lambda_R$ ), largura da curva (*FWHM*)

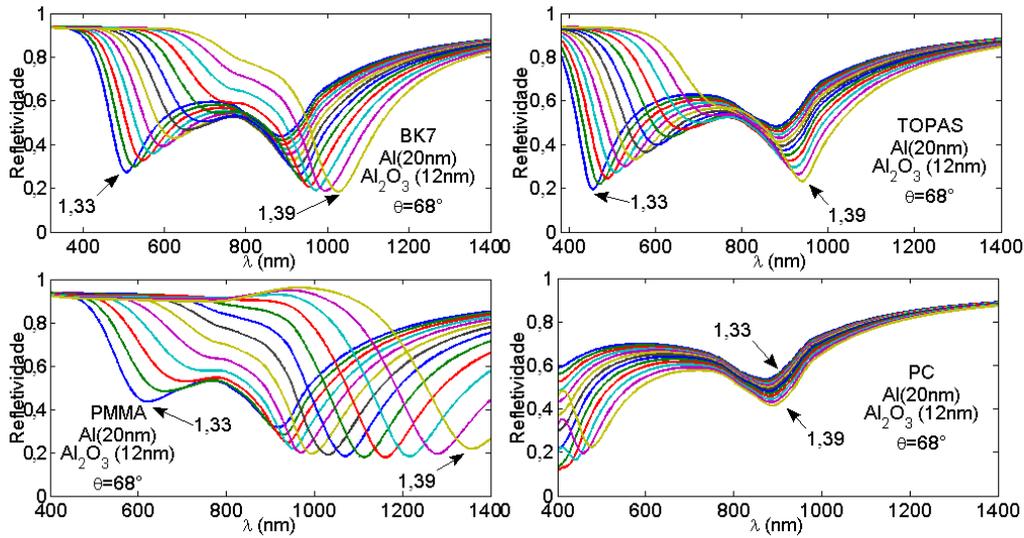


Figura 3.18: Curvas SPR no modo WIM para diferentes analitos no intervalo de  $1,33 < n_3 < 1,39$ . Substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC com filmes de alumínio de 20 nm de espessura. Ângulo de incidência fixado em  $68^\circ$  para faixa de comprimentos de onda de  $400 \text{ nm} < \lambda < 1400 \text{ nm}$ .

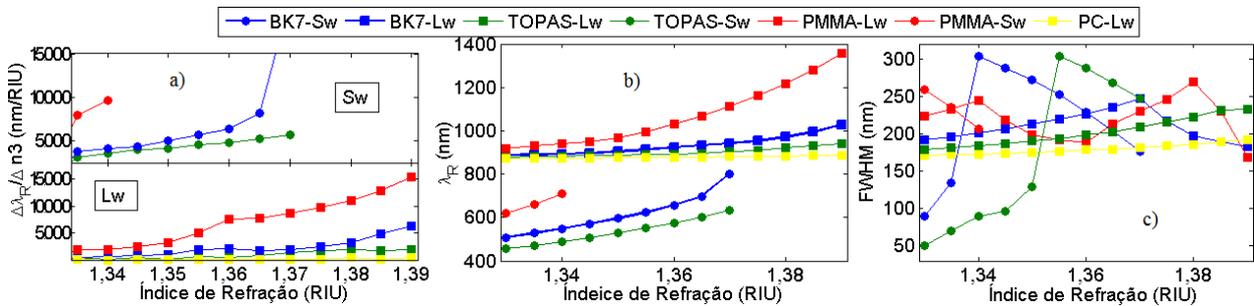


Figura 3.19: Parâmetros extraídos das curvas SPR no modo WIM para filmes de Al. a) Sensibilidade, b) Comprimento de onda de ressonância e c) largura da curva associada ao valor FWHM.

e sensibilidade ( $S_\lambda = \Delta\lambda_R/\Delta n_3$ ), extraídos das curvas SPR, são apresentados em função dos índice de refração na Figura 3.19. A ressonância-Sw supera substancialmente a Lw para BK7 e TOPAS. Todavia, para índices de refração moderados a ressonância-Lw supera a Sw em substratos de PMMA. As duas sensibilidades ( $S_{\lambda-Lw}$  e  $S_{\lambda-Sw}$ ) aumentam de forma quase linear com a variação de  $n_3$  no substrato de vidro (BK7). A variação da largura da curva SPR, calculada no ponto FWHM, indica que a excitação-Sw, em geral, possui valores menores.

A característica de detecção das estruturas BK7/Al, TOPAS/Al, PMMA/Al e PC/Al no modo AIM são apresentadas na Figura 3.20 para os comprimentos de onda excitação

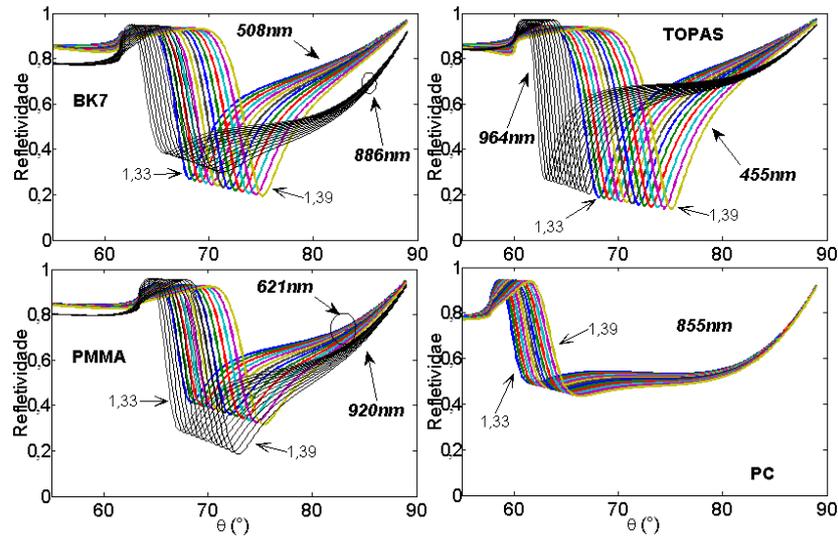


Figura 3.20: Curvas SPR no modo AIM para diferentes analitos no intervalo de  $1,33 < n_3 < 1,39$ . Curvas com os comprimentos de onda fixos nos valores encontrados na simulação WIM (Sw em cores e Lw em tons de cinza). Substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC com filmes de alumínio com espessura de 20 nm.

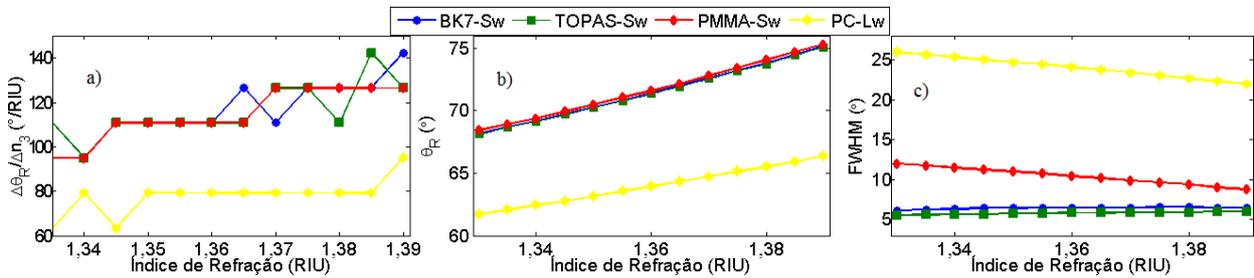


Figura 3.21: Parâmetros extraídos das curvas SPR no modo AIM para filmes de Al. a) Sensibilidade, b) Ângulo de ressonância e c) largura da curva associada ao valor FWHM.

obtidos na resposta WIM para o ângulo de  $68^\circ$ . A profundidade da curva SPR aumenta moderadamente com da variação de  $n_3$ , em contraste ao modo WIM, e as curvas para a excitação Lw possuem maior valor de FWHM.

Os parâmetros extraídos das curvas SPR encontram-se na Figura 3.21. O ângulo de ressonância ( $\theta_R$ ), a sensibilidade ( $S_\theta$ ) e a largura da curva ( $FWHM$ ) possuem comportamento linear em função do  $n_3$ . Os maiores valores de  $S_\theta$ , em torno de  $130^\circ/\text{RIU}$ , foram alcançados nas configurações BK7-Sw e PMMA-Sw. Assim como no modo WIM, o substrato de PC alcançam os menores valores de desempenho se comparados aos outros arranjos.

Por último, a influência da espessura da camada metálica para os modos WIM e AIM

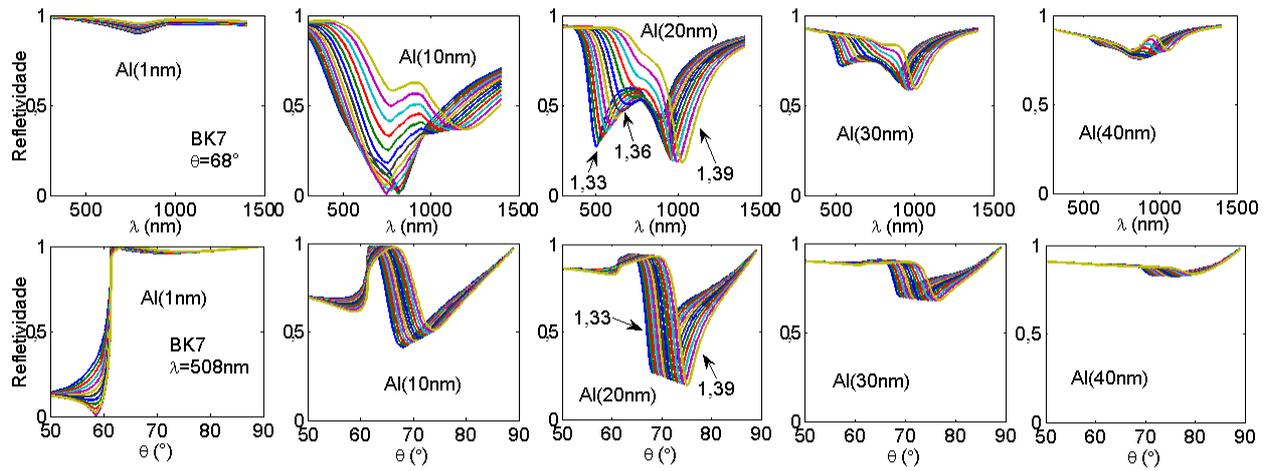


Figura 3.22: Refletividade-WIM (gráficos superiores) e AIM (gráficos inferiores) para diferentes espessuras do filme de alumínio. Curvas SPRs para a multicamada composta por BK7/Al/analito, com as espessuras para os filmes metálicos de 1, 10, 20, 30 e 40 nm.

(Sw) são apresentadas na Figura 3.22. Para a configuração BK7-Al, os resultados claramente demonstram que espessuras próximas de 20 nm são ideais para filmes finos de Al.

### 3.2.2 Filmes finos de Ouro

A função dielétrica complexa para o ouro encontra-se na Figura 3.23. Os valores experimentais foram obtidas de [63, 68] e a aproximação de Drude foi calculada para os valores  $\lambda_p=1,6826 \times 10^{-7} \text{m}$  e  $\lambda_c=8,9342 \times 10^{-6} \text{m}$  [30], a qual descreve suficientemente a CDF.  $\epsilon_{2R}(\lambda)$  é inicialmente muito pequeno, mas a partir de  $\lambda > 500 \text{ nm}$  decresce continuamente para valores negativos.  $\epsilon_{2I}(\lambda)$  é positivo e mantém um baixo valor para toda faixa espectral de interesse. Ambos,  $\epsilon_{2R}(\lambda)$  e  $\epsilon_{2I}(\lambda)$ , revelam uma oscilação distinta próximo a 500 nm que se origina da transição inter-bandas. Escolheu-se os dados de Johnson para representar a propriedade óptica do filme de ouro.

A distribuição espectral da refletividade no modo WIM  $r(\lambda)$  é apresentado na Figura 3.24. Todos os substratos são adequados para uso em aplicações baseadas na SPR. Para o BK7 e TOPAS a ressonância está localizada em comprimentos de onda longos (fora do espectro de luz visível) para o ângulo de  $63^\circ$ .

Através da distribuição angular da refletividade  $r(\theta)$  presente na Figura 3.25, é possível perceber que os valores de  $FWHM(\theta)$  diminuem substancialmente para os pontos de ope-

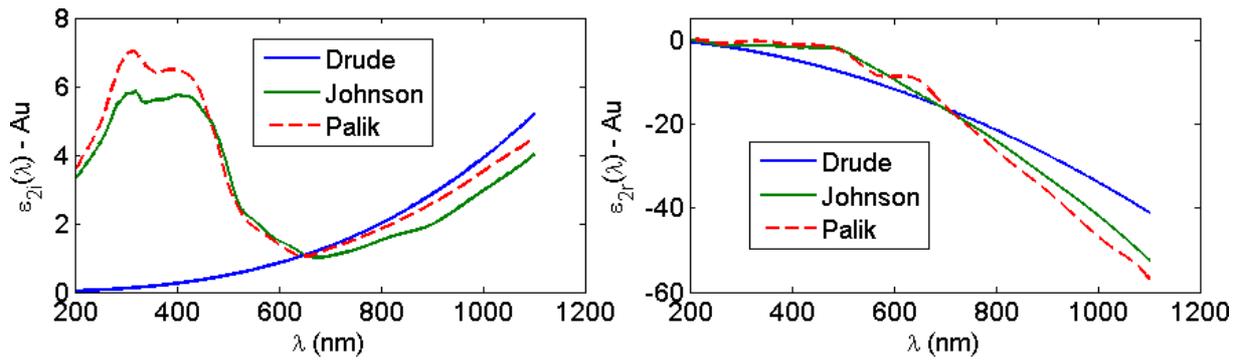


Figura 3.23: Parte real e imaginária para diferentes representações da CDF do ouro. Nota-se que a CDF experimental é parcialmente aproximada pela D.A.

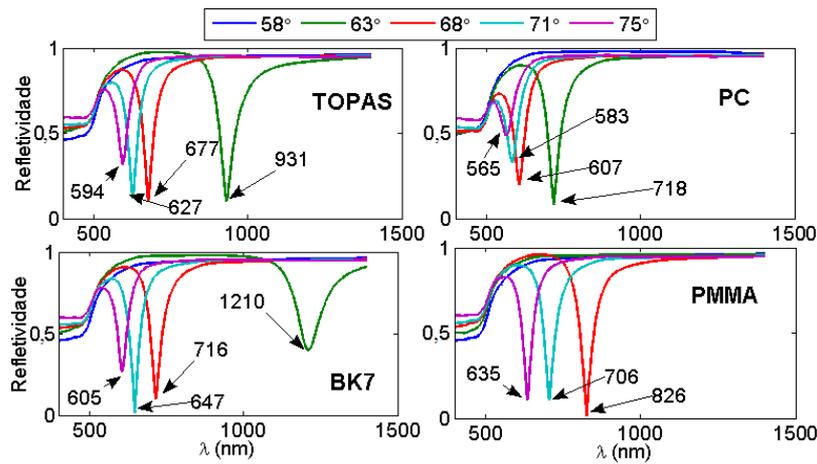


Figura 3.24: Curvas SPR no modo WIM para os substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Ângulos de incidência fixados em 58°, 63°, 68°, 71° e 75° para faixa de comprimentos de onda de 400 nm <  $\lambda$  < 1400 nm. Resposta WIM para filmes de ouro com espessura de 50 nm, em contato com água deionizada e desgaseificada.

ração (OP) de longos comprimentos de onda (> 800 nm) e ângulos pequenos. Todavia, a multicamada BK7/Au/H<sub>2</sub>O com  $\theta=63^\circ$  possui baixa profundidade/contraste.

A Figura 3.26 ilustra a característica de detecção no modo WIM para o ângulo de incidência fixo em 68°. Os conjunto de valores de índice de refração estão na faixa  $1,33 < n_3 < 1,39$  RIU. Os substratos TOPAS e PMMA possuem profundidade/contraste crescente e decrescente, respectivamente, com o incremento de  $n_3$ . Para índices de refração abaixo 1,36 a profundidade/contraste das curvas para BK7 e PC aumentam e acima desse valor o contraste diminui. Com exceção de PC, o incremento de  $n_3$  faz o valor do mínimo deslocar-se para longos comprimentos de onda.

Os parâmetros  $\lambda_R$ ,  $FWHM$  e  $S_\lambda$ , são apresentados em função dos índice de refração na

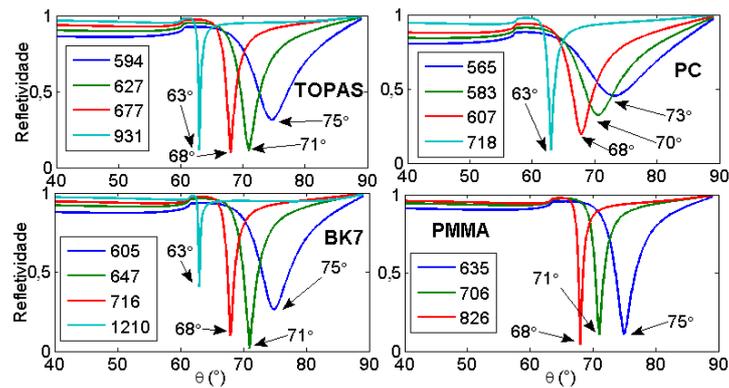


Figura 3.25: Curvas SPR no modo AIM para os substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Gráficos para diferentes comprimentos de onda, indicados na figura, para faixa de ângulo de  $40^\circ < \theta < 80^\circ$ . Resposta AIM para filmes de ouro com 50 nm em contato com a água deionizada e desgaseificada.

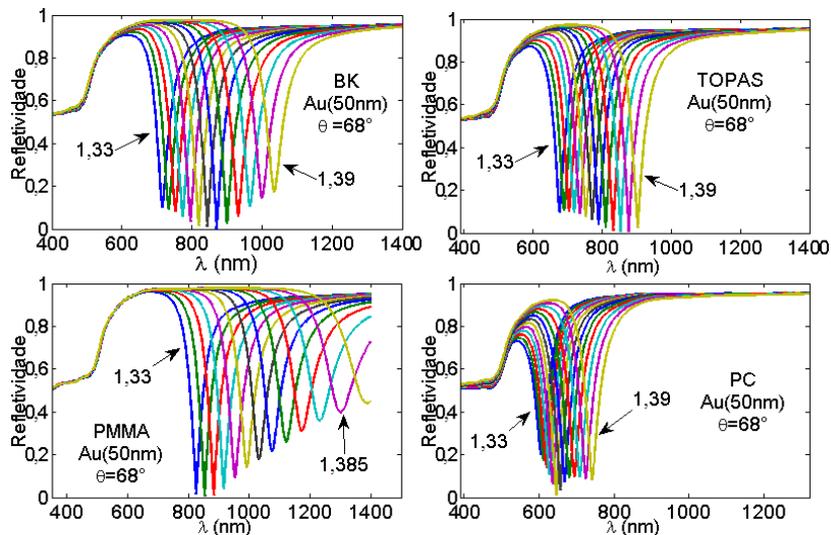


Figura 3.26: Curvas SPR no modo WIM para diferentes analitos no intervalo de  $1,33 < n_3 < 1,39$ . Substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Ângulo de incidência fixado em  $68^\circ$  para faixa de comprimentos de onda de  $400 \text{ nm} < \lambda < 1400 \text{ nm}$ . O filme de ouro com espessura de 50 nm.

Figura 3.27. A sensibilidade possui faixa dinâmica de operação para toda faixa de índice de refração utilizada ( $6 \times 10^{-2} \text{ RIU}$ ) e PMMA apresenta o melhor valor de sensibilidade, possuindo magnitude de  $9200 \pm 2000 \text{ nm/RIU}$ ; todavia revela os maiores valores de  $FWHM$ . Os valores de  $\lambda_R$  aumentam de forma linear com a variação de  $n_3$  para todos os substratos.

A característica de detecção do modo AIM é apresentada na Figura 3.28. As curvas SPRs são calculadas para os valores de  $\lambda_R$  obtidos na resposta WIM para o ângulo de  $68^\circ$ . A profundidade da curva SPR permanece invariável para BK7 e PMMA. Assim como nos

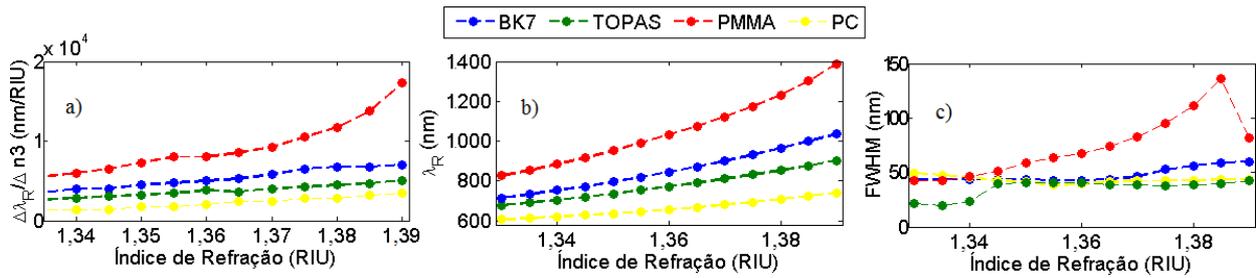


Figura 3.27: Parâmetros extraídos das curvas SPR no modo WIM para filmes de Au. a) Sensibilidade, b) Comprimento de onda de ressonância e c) largura da curva associada ao valor FWHM.

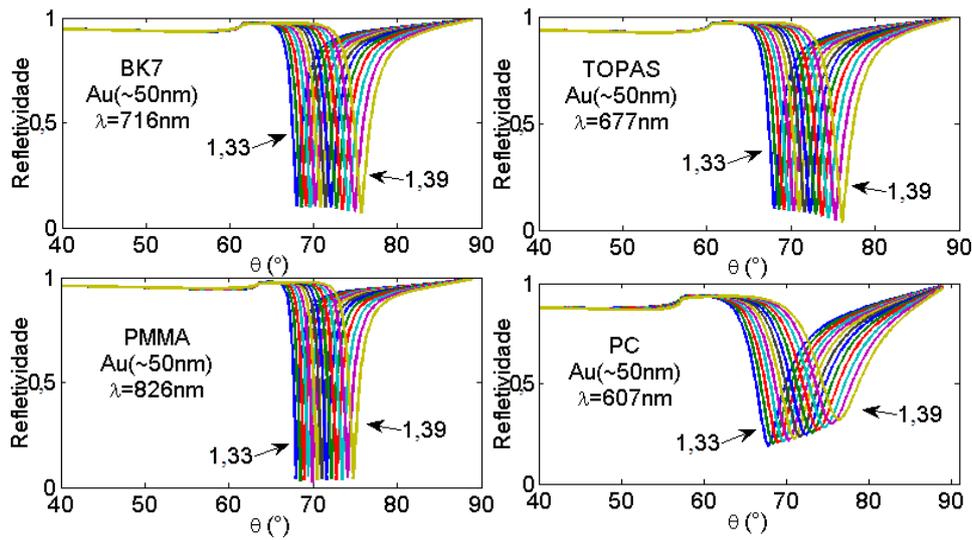


Figura 3.28: Curvas SPR no modo AIM para diferentes analitos no intervalo de  $1,33 < n_3 < 1,39$ . Substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC com filmes de ouro de 50 nm de espessura. Curvas com os comprimentos de onda fixos nos valores encontrados na simulação WIM.

filmes de alumínio, o substrato de PC revela curvas com maior valor de  $FWHM$ .

Os parâmetros extraídos das curvas SPR encontram-se na Figura 3.29. O ângulo de ressonância ( $\theta_R$ ), a sensibilidade ( $S_\theta$ ) e a largura da curva ( $FWHM$ ) possuem comportamento linear crescente em função do  $n_3$ . A sensibilidade calculada para  $\lambda=607 \text{ nm}$  para a interface PC/Au alcançaram os maiores valores, em torno de  $140^\circ/\text{RIU}$ .

Por último, a influência da espessura da camada metálica para os modos WIM e AIM são apresentadas na Figura 3.30 para a configuração BK7/Au. Os resultados claramente demonstram que espessuras próximas de 50 nm são ideais para filmes finos de Au.

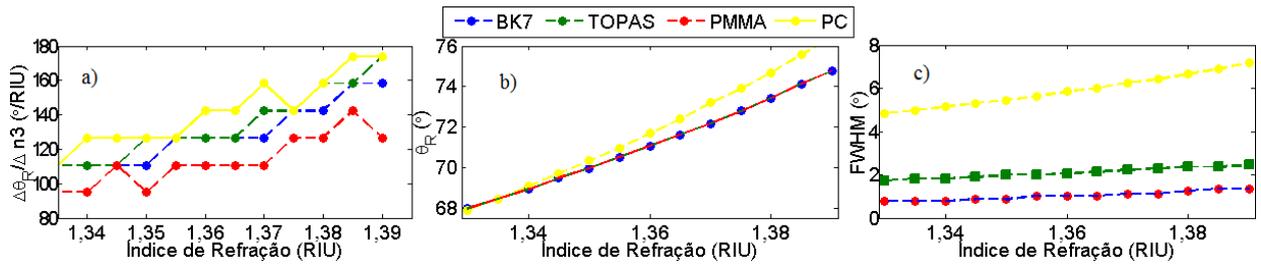


Figura 3.29: Parâmetros extraídos das curvas SPR no modo AIM para filmes de Au. a) Sensibilidade, b) Ângulo de ressonância e c) largura da curva associada ao valor FWHM.

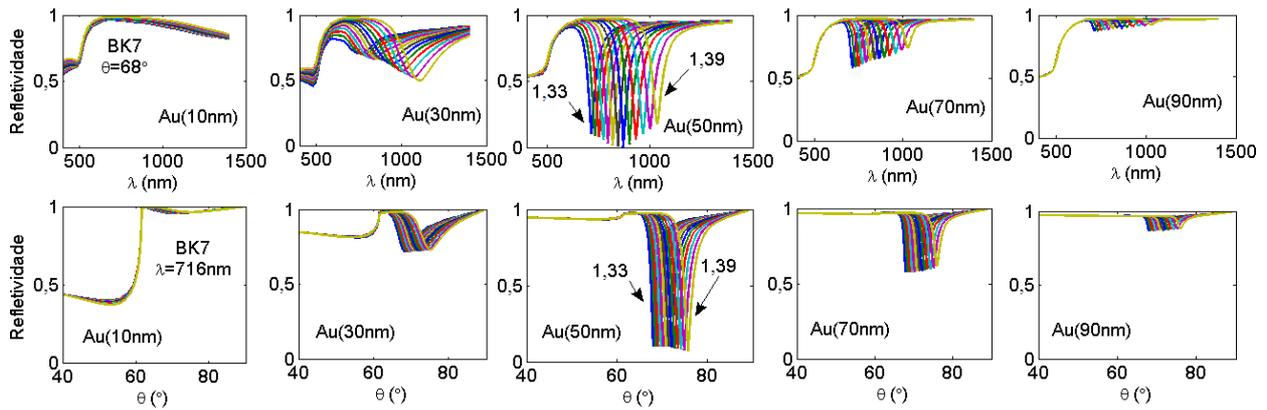


Figura 3.30: Refletividade-WIM (gráficos superiores) e AIM (gráficos inferiores) para diferentes espessuras do filme de ouro. Curvas SPR para multicamada composta por BK7/Au/analito, com as espessuras para os filmes metálicos de 10, 30, 50, 70 e 90 nm.

### 3.2.3 Filmes finos de Cobre

A CDF do metal diamagnético e a aproximação pelo modelo de Drude encontram-se na Figura 3.31. Os valores experimentais foram obtidas de [63, 68] e a D.A. foi calculada para os valores  $\lambda_p=1,3617 \times 10^{-7}m$  e  $\lambda_c=4,0852 \times 10^{-5}m$  [30], a qual descreve parcialmente a CDF.  $\epsilon_{2R}(\lambda)$  decresce constantemente para valores negativos para  $\lambda > 520$  nm, enquanto  $\epsilon_{2I}(\lambda)$  é positivo e relativamente pequeno para a faixa espectral de interesse, contudo não são bem retratados pelo modelo de Drude. Ambos  $\epsilon_{2R}(\lambda)$  e  $\epsilon_{2I}(\lambda)$  revelam uma oscilação próximo a 600 nm, devido a estrutura de transição inter-banda, e também não está presente na D.A. Os dados experimentais de Johnson foram escolhidos para representar a propriedade óptica do filme de cobre.

A distribuição espectral da refletividade no modo WIM  $r(\lambda)$  é apresentado na Figura 3.32. Assim como nos filmes de ouro, todos os substratos são adequados para excitação dos

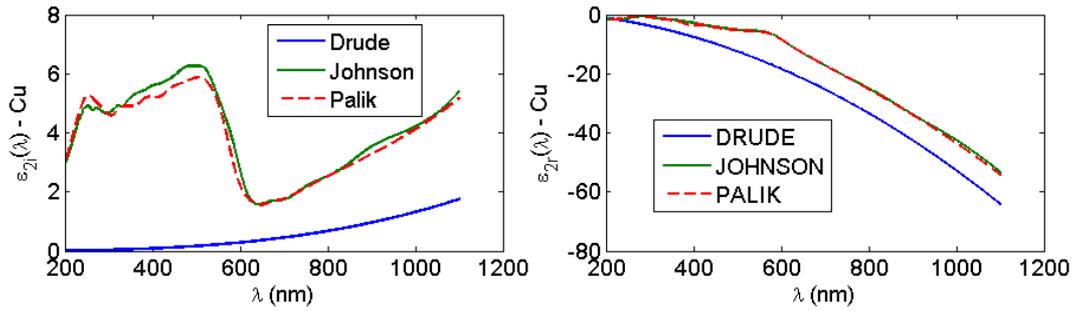


Figura 3.31: Função dielétrica complexa do Cu. Parte real e imaginária para diferentes representações. Observa-se que a CDF experimental é parcialmente aproximada pela D.A.

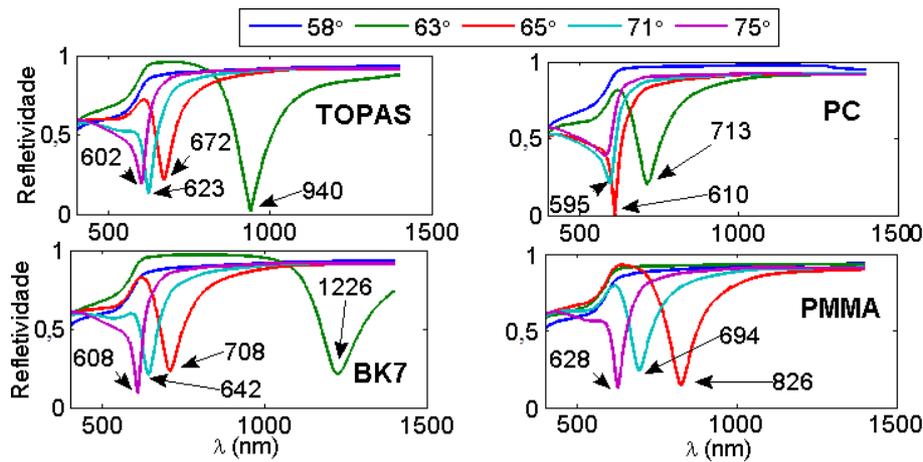


Figura 3.32: Curvas SPR no modo WIM para os substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Ângulos de incidência fixados em 58°, 63°, 68°, 71° e 75° para faixa de comprimentos de onda de  $400 \text{ nm} < \lambda < 1400 \text{ nm}$ . Resposta WIM para filmes de cobre com espessura de 40 nm em contato com água deionizada e desgaseificada.

SPs em filmes de cobre. O OP (par  $\lambda - \theta$ ) para 63° no substrato de PMMA está posicionado fora da faixa espectral de interesse.

Sob o modo AIM ( $r(\theta)$ ), apresentado na Figura 3.33, todos os OPs possuem profundidade/contraste maiores que 0.35 e assim como nos filmes de ouro, os OPs de longos comprimentos de onda e ângulos pequenos possuem baixos valores de  $FWHM(\theta)$ .

A característica de detecção no modo WIM para índices de refração na faixa  $1,33 < n_3 < 1,39$  RIU e ângulo de incidência fixo em 68°, encontra-se na Figura 3.34. Os substratos BK7, TOPAS e PMMA possuem profundidade/contraste crescem ligeiramente com o incremento de  $n_3$ . Para a multicamada PC/Cu, o valor do mínimo fica concentrado em uma pequena faixa de comprimentos de onda a medida que o valor de  $n_3$  é incrementado.

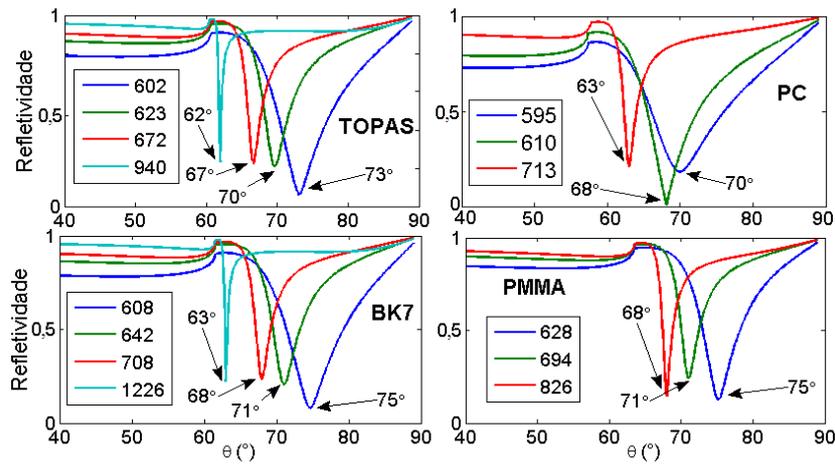


Figura 3.33: Curvas SPR no modo AIM para os substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Gráficos para diferentes comprimentos de onda, indicados na figura, para faixa de ângulo de  $40^\circ < \theta < 80^\circ$ . Resposta AIM para filmes de cobre com 40 nm em contato com a água deionizada e desgaseificada.

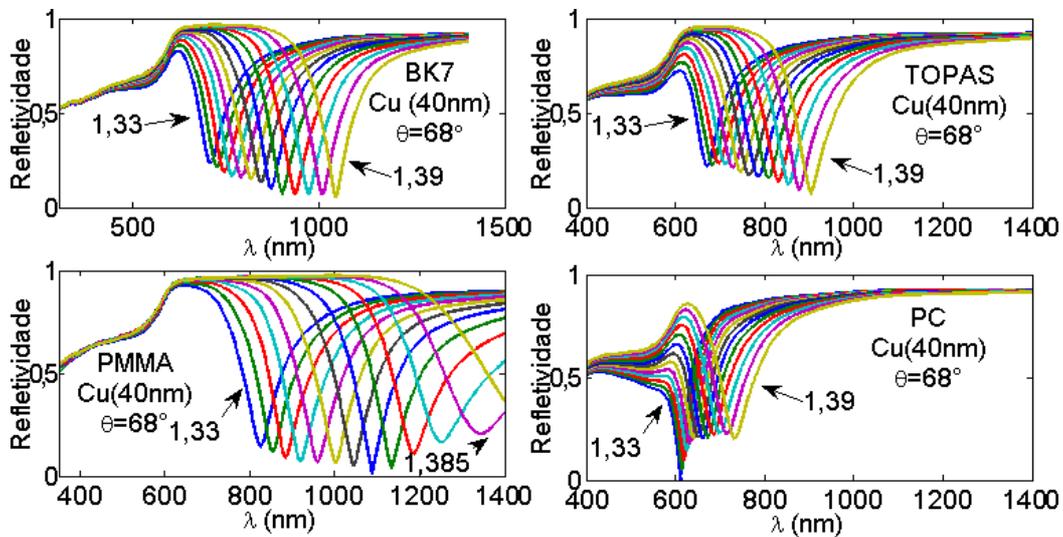


Figura 3.34: Curvas SPR no modo WIM para diferentes analitos no intervalo de  $1,33 < n_3 < 1,39$ . Substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC com filmes de cobre de 40 nm de espessura. Ângulo de incidência fixado em  $68^\circ$  para faixa de comprimentos de onda de  $400 \text{ nm} < \lambda < 1400 \text{ nm}$ .

Os parâmetros extraídos das curvas SPR-WIM, são apresentados em função dos índice de refração na Figura 3.35. Os valores de  $\lambda_R$  e  $S_\lambda$  aumentam de forma linear com a variação de  $n_3$ . PMMA apresenta os maiores valores de sensibilidade mas revela os maiores valores de *FWHM*. Os valores de  $S_\lambda$  para PMMA excedem em 4 vezes os valores alcançáveis por PC.

A característica de detecção do modo AIM é apresentada na Figura 3.36. Em oposição

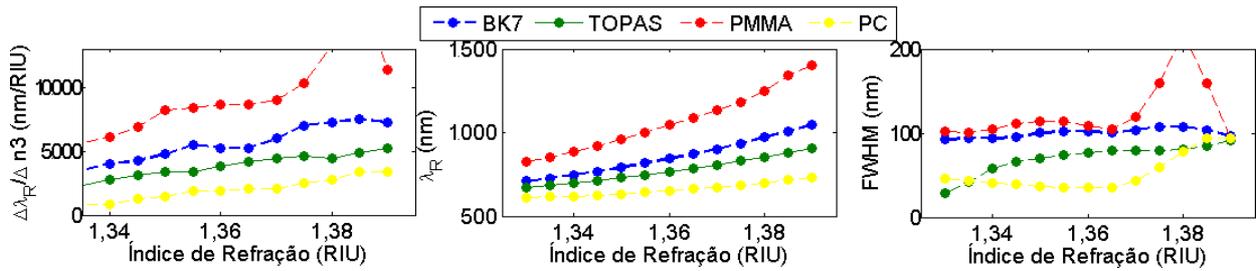


Figura 3.35: Parâmetros extraídos das curvas SPR no modo WIM para filmes de Cu. a) Sensibilidade, b) Comprimento de onda de ressonância e c) largura da curva associada ao valor FWHM.

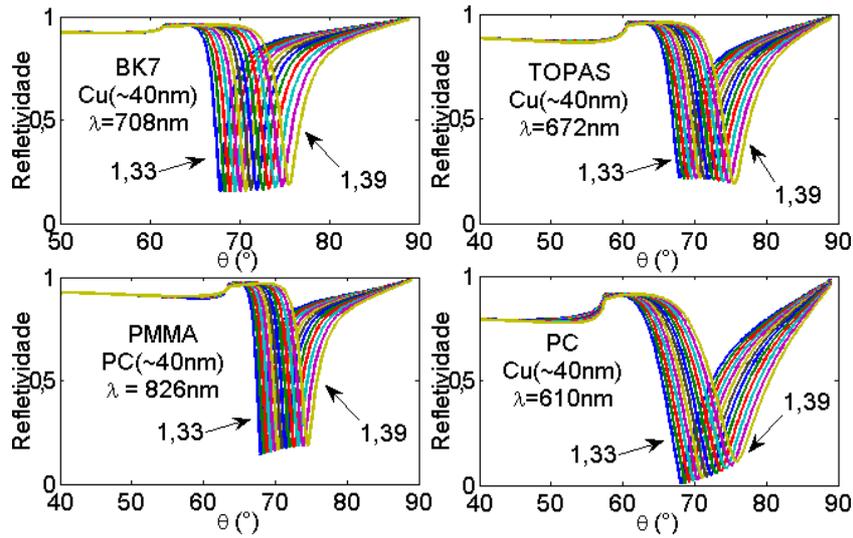


Figura 3.36: Curvas SPR no modo AIM para diferentes analitos no intervalo de  $1,33 < n_3 < 1,39$ . Curvas com os comprimentos de onda fixos nos valores encontrados na simulação WIM. Substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC com filmes de cobre de 40 nm de espessura.

ao modo WIM, o substrato de PC possui os melhores valores de profundidade/contraste da curva SPR. As curvas SPRs são calculadas para 708 nm (BK7), 672 nm (TOPAS), 826 nm (PMMA) e 610 nm (PC) obtidos na resposta WIM para o ângulo de  $68^\circ$ . A profundidade da curva SPR permanece praticamente invariável para os polímeros BK7, TOPAS e PMMA.

Os parâmetros extraídos das curvas SPR encontram-se na Figura 3.37. A faixa dinâmica de  $3 \times 10^{-2}$  é alcançada pelo estrutura PC/Cu, com valores de  $S_\theta$  próximos a  $127^\circ/\text{RIU}$ . Os ângulos de ressonâncias aumentam com o incremento de  $n_3$  e todos os substratos apresentam variações de semelhantes de  $\theta_R$ . PMMA e BK7 fornecem curvas com os mesmos valores de largura, e PC demonstra deter as curvas SPR com maior valor de  $FWHM$ .

Por último, a influência da espessura da camada metálica para os modos WIM e AIM

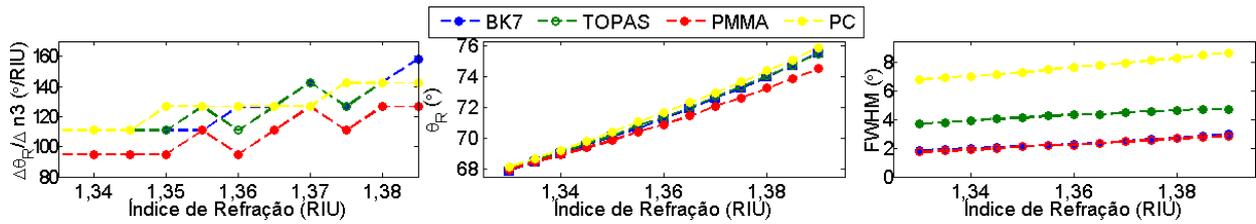


Figura 3.37: Parâmetros extraídos das curvas SPR no modo AIM para filmes de Cu. a) Sensibilidade, b) Ângulo de ressonância e c) largura da curva associada ao valor FWHM.

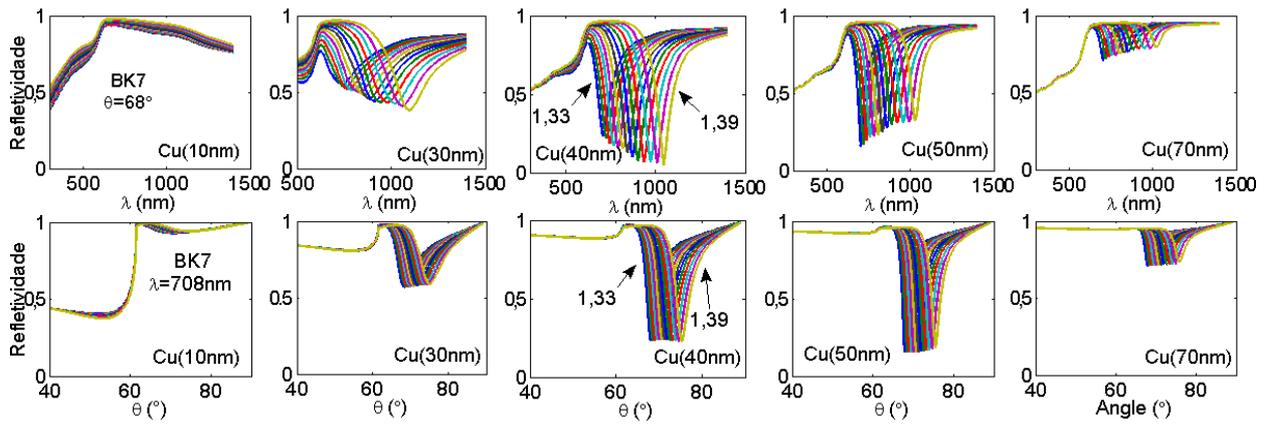


Figura 3.38: Refletividade-WIM (gráficos superiores) e AIM (gráficos inferiores) para diferentes espessuras do filme de cobre. Curvas SPRs para a multicamada composta por BK7/Cu/analito, com as espessuras dos filmes metálicos de 10, 30, 40, 50 e 70 nm.

são apresentadas na Figura 3.38 para a configuração BK7/Cu. Os resultados claramente demonstram que espessuras entre 40 e 50 nm são ideais para filmes finos de Cu.

### 3.2.4 Filmes finos de Prata

A CDF da prata e a aproximação pelo modelo de Drude encontram-se na Figura 3.39. Os valores experimentais foram obtidas de [63, 68]. A D.A. calculada para os valores  $\lambda_p = 1,4541 \times 10^{-7}$  m e  $\lambda_c = 1,7614 \times 10^{-5}$  m [30], também é apresentada na figura. A CDF do metal diamagnético é suficientemente descrita pela D.A. No espectro de interesse,  $\epsilon_{2R}(\lambda)$  decresce a partir de  $\lambda > 300$  nm para valores negativos;  $\epsilon_{2I}(\lambda)$  é positivo em toda faixa espectral de interesse. Ambos,  $\epsilon_{2R}(\lambda)$  e  $\epsilon_{2I}(\lambda)$ , revelam uma oscilação distinta próximo a 300 nm, não apresentada na figura, que se origina da transição inter-bandas. Escolheu-se os dados de Palik para representar a propriedade óptica do filme de prata.

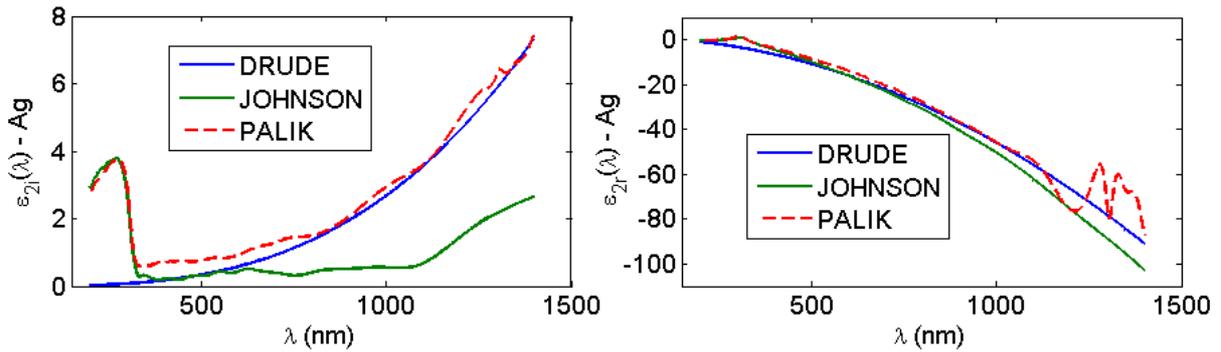


Figura 3.39: Função dielétrica complexa do Ag. Parte real e imaginária para diferentes representações. Ver-se que a CDF experimental é parcialmente aproximada pela D.A.

A distribuição espectral da refletividade no modo WIM  $r(\lambda)$  é apresentado na Figura 3.40. Assim como nos filmes de ouro e cobre, todos os substratos são adequados para excitação dos SPs em filmes de prata. O OP (par  $\lambda - \theta$ ) para  $63^\circ$  e substrato de PMMA está posicionado fora da faixa espectral de interesse.

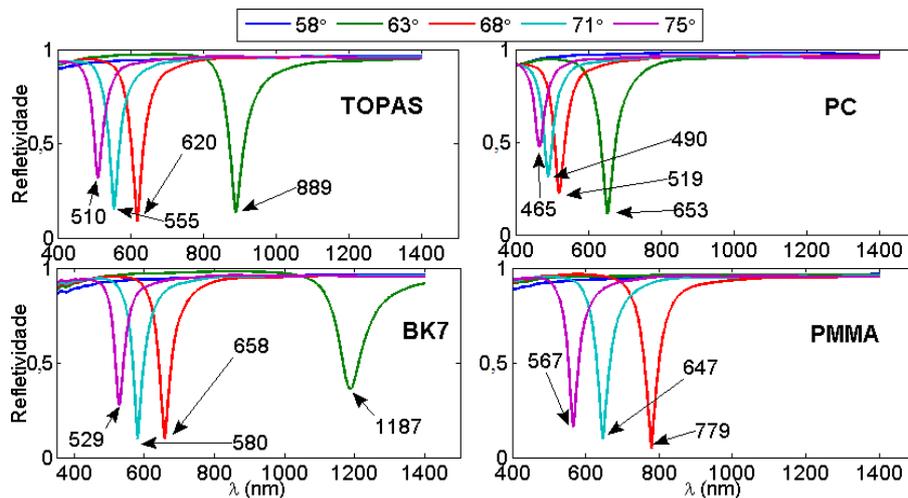


Figura 3.40: Curvas SPR no modo WIM para os substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Ângulos de incidência fixados em  $58^\circ, 63^\circ, 68^\circ, 71^\circ$  e  $75^\circ$  para faixa de comprimentos de onda de  $400 \text{ nm} < \lambda < 1400 \text{ nm}$ . Resposta WIM para filmes de prata com  $50 \text{ nm}$  em contato com água deionizada e desgaseificada.

O comportamento do sensor SPR com filmes de prata torna-se mais evidente quando se observa a distribuição angular da refletividade  $r(\theta)$  no modo AIM. Como apresentada na Figura 3.41, a profundidade/contraste da curva SPR diminui para OPs com altos valores de  $\theta$  e baixos valores de  $\lambda$ ; a exceção para desse comportamento é o OP  $\rightarrow \lambda = 1187 - \theta = 63^\circ$

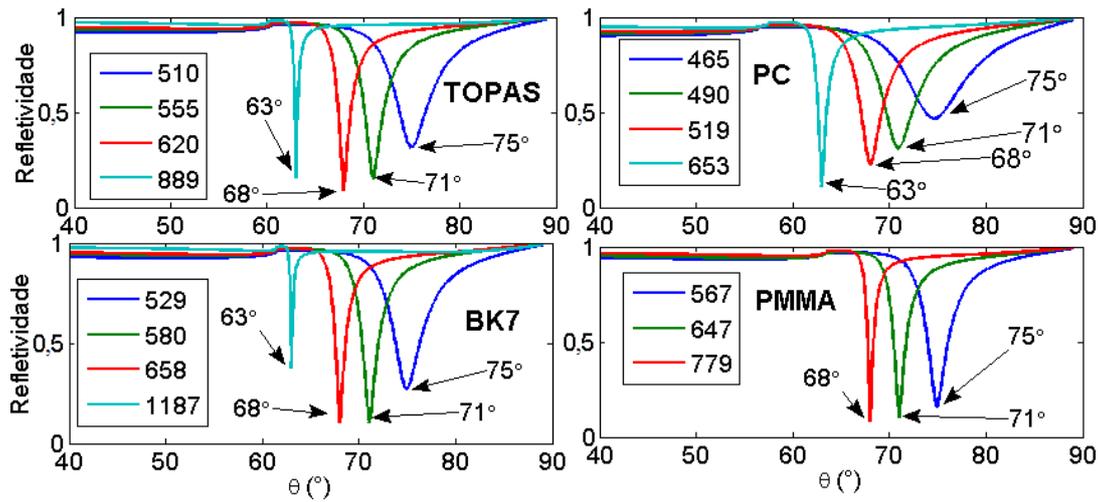


Figura 3.41: Curvas SPR no modo AIM para os substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC. Gráficos para diferentes comprimentos de onda, indicados na figura, para faixa de ângulo de  $40^\circ < \theta < 80^\circ$ . Resposta AIM para filmes de prata com 50 nm em contato com a água deionizada e desgaseificada.

em substratos de BK7. Não obstante, há uma correlação entre os modos WIM e AIM, i.e., curvas com baixos contrastes em um modo permanecem com baixos valores no outro modo. Ademais, todos os substratos possuem boa resposta SPR.

A característica de detecção no modo WIM para índices de refração na faixa  $1,33 < n_3 < 1,39$  RIU e ângulo de incidência fixo em  $68^\circ$ , encontra-se na Figura 3.42. A profundidade/contraste das curvas SPR sofrem pequenas alterações com o incremento de  $n_3$  e o valor do mínimo desloca-se para longos comprimentos de onda, especialmente para PMMA. Os parâmetros extraídos das curvas SPR-WIM, são apresentados em função dos índice de refração na Figura 3.43. Os valores de  $FWHM$  assume magnitude de  $40 \pm 4$  nm, e ligeira oscilação com o aumento de  $n_3$ , para BK7, TOPAS e PC. Os valores de  $\lambda_R$  e  $S_{WIM}$  aumentam de forma linear com a variação de  $n_3$ , com PMMA apresentando os maiores valores de sensibilidade,  $S_{WIM} \approx 9.000$  nm/RIU.

No modo AIM, a característica de detecção (ver Figura 3.44) mostra que a profundidade da curva SPR permanece independente da variação de  $n_3$  para BK7, TOPAS e PMMA. De forma semelhante ao ouro e ao cobre, todos os substratos são aplicáveis à excitação dos SP no modo AIM.

Os parâmetros extraídos das curvas SPR-AIM encontram-se na Figura 3.45. O ângulo de ressonância ( $\theta_R$ ), a sensibilidade ( $S_\theta$ ) e a largura da curva ( $FWHM$ ) possuem compor-

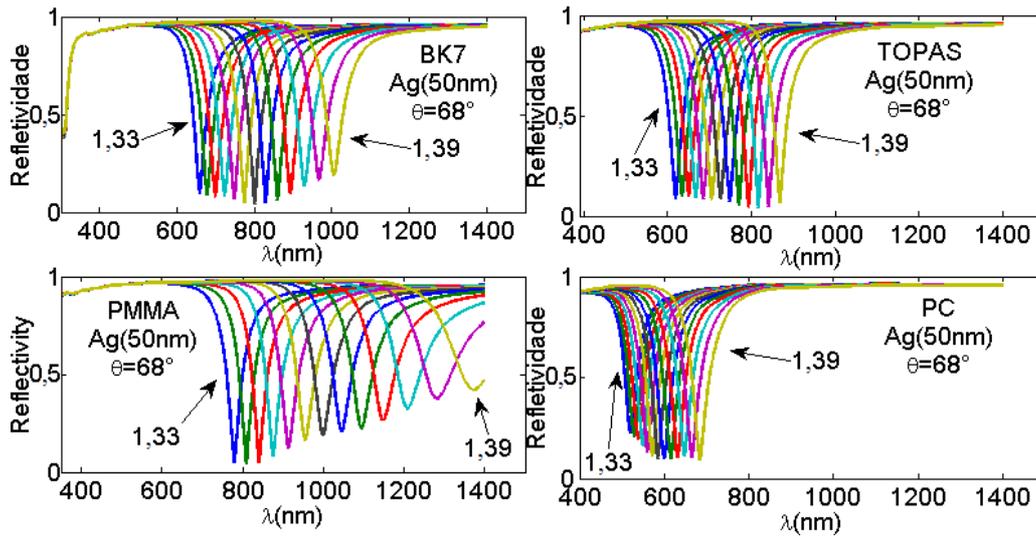


Figura 3.42: Curvas SPR no modo WIM para diferentes analitos no intervalo de  $1,33 < n_3 < 1,39$ . Substratos de BK7, TOPAS, PMMA e PC com filmes de prata de 50 nm de espessura. Ângulo de incidência fixado em  $68^\circ$  para faixa de comprimentos de onda de  $400 \text{ nm} < \lambda < 1400 \text{ nm}$ . Curvas para filmes de prata com espessuras de 50 nm.

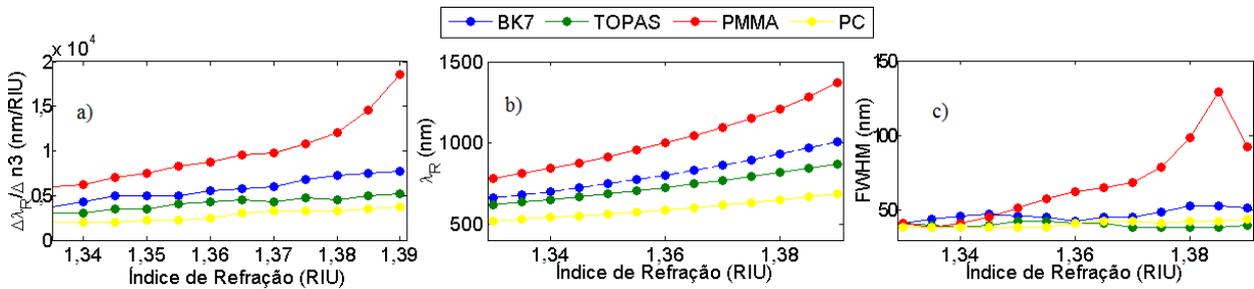


Figura 3.43: Parâmetros extraídos das curvas SPR no modo WIM para filmes de Ag. a) Sensibilidade, b) Comprimento de onda de ressonância e c) largura da curva associada ao valor FWHM.

tamento linear em função do  $n_3$ . Os maiores valores de  $S_\theta$ , em torno de  $150^\circ/\text{RIU}$ , foram alcançados nas configurações PC/Ag. Em oposição ao modo WIM, o substrato de PMMA alcançam os menores valores de  $S_\theta$ . Todavia, baixos valores de  $FWHM$  são apresentados pelas curvas da configuração PMMA/Ag.

Por último, a influência da espessura da camada metálica para os modos WIM e AIM são apresentadas na Figura 3.44. Para a configuração BK7/Ag, os resultados claramente demonstram que espessuras próximas de 50 nm são ideais para filmes finos de prata.

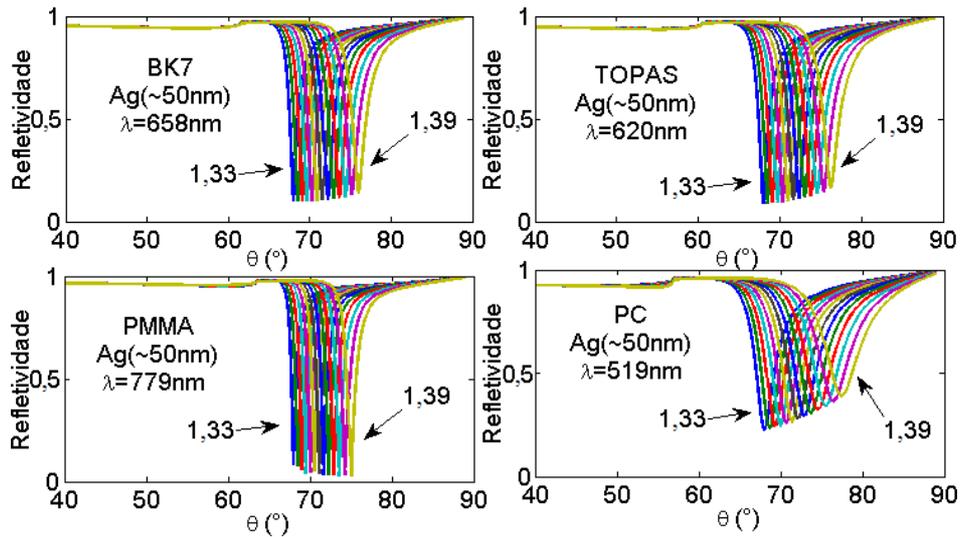


Figura 3.44: Curvas SPR no modo AIM para diferentes analitos no intervalo de  $1,33 < n_3 < 1,39$ . Curvas para os comprimentos de onda fixos em 658 nm(BK7), 620 nm(TOPAS), 779 nm(PMMA) e 519 nm(PC) encontrados na simulação WIM, para filmes de prata com espessuras de 50 nm.

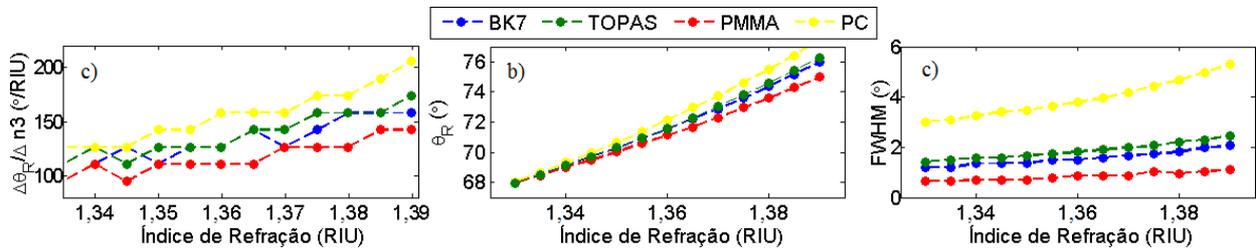


Figura 3.45: Parâmetros extraídos das curvas SPR no modo AIM para filmes de Ag. a) Sensibilidade, b) Ângulo de ressonância e c) largura da curva associada ao valor FWHM.

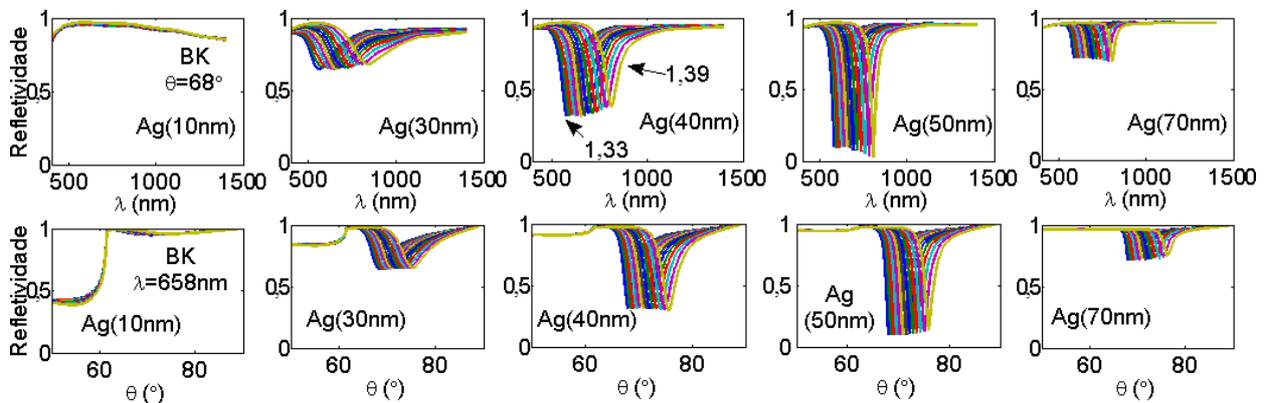


Figura 3.46: Refletividade-WIM (gráficos superiores) e AIM (gráficos inferiores) para diferentes espessuras do filme de prata. Curvas SPRs para a multicamada composta por BK7/Ag/analito, com as espessuras dos filmes metálicos de 10, 30, 40, 50 e 70 nm.

### 3.3 Detectividade

Além da sensibilidade, a detectividade também foi utilizada como figura de mérito para caracterização da resposta SPR. Por permitir quantificar a qualidade da resposta da instrumentação óptica-eletrônica do sensor, a detectividade é utilizada para comparar diretamente as respostas do sensor nos modos AIM e WIM. A resolução instrumental para o modo WIM foi ajustada para  $\langle v_\lambda \rangle = 0,1$  nm, baseado nas especificações do espectrômetro e nos estudos experimentais realizados [34, 62]. A Figura 3.47 apresenta os valores de detectividade alcançáveis no modo WIM, assumindo 0.1 nm como resolução instrumental.

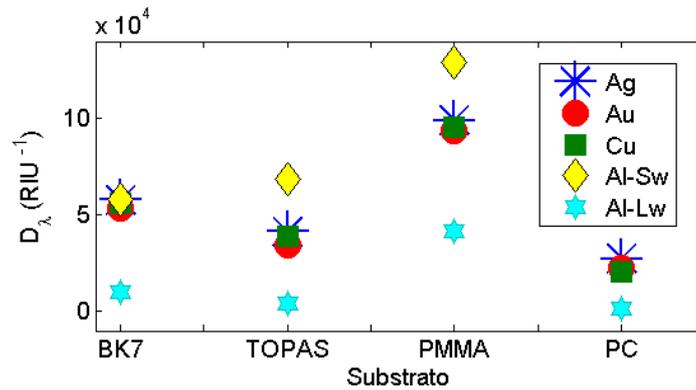


Figura 3.47: Detectividade no modo WIM para diferentes interfaces substrato/metal. OP com ângulo fixo em  $\theta = 68^\circ$ .

Tendo como base os valores alcançáveis de  $D_\lambda$  é possível determinar qual deve ser a resolução instrumental do sensor de imagem (câmera CCD ou CMOS) usado no modo AIM, de maneira que ambos os modos forneçam o mesmo valor de detectividade ( $D_\theta = D_\lambda$ ). Os valores requeridos de  $\langle v_\theta \rangle$  são obtidos pela expressão:

$$\langle v_\theta \rangle = (S_\theta/S_\lambda) \langle v_\lambda \rangle, \quad (3.16)$$

e a Tabela 3.1 apresenta os valores de  $D_\theta$  para os 16 pares substrato/metal considerados no presente trabalho. É importante mencionar que esta tabela pode ser utilizada para selecionar a resolução instrumental do modo AIM. Dessa forma, quanto maior o valor de  $\langle v_\theta \rangle$  melhor a qualidade do sensor de imagem que deve ser utilizado.

A análise geométrica do *set-up* experimental apresentado na Figura 3.48, fornece o "Campo de Visão do Prisma" (Field Of View - FoV) que representa a abertura angular

Tabela 3.1: Magnitude de  $\langle v_\theta \rangle$  para  $\langle v_\lambda \rangle = 0.1$  nm.

$\langle v_\theta \rangle$ ( $\times 10^{-3}$ graus)	BK7	TOPAS	PMMA	PC
Ag	2,2730	3,3535	1,1840	5,6961
Au	2,4264	3,5787	1,2133	6,3072
Cu	2,2699	3,2372	1,1087	6,3577
Al-Sw	2,5492	1,2917	1,8232	-
Al-Lw	8,1240	18,382	2,1310	38.440

do feixe luminoso que atinge o sensor de imagem do transdutor SPR operando no modo AIM. Com o valor de FoV, é possível calcular a resolução angular do sensor SPR, expressa por:

$$\langle v_\theta^* \rangle = FoV/DP \quad (3.17)$$

$$FoV = 2 \arctan \left( \frac{CI}{DF} \right), \quad (3.18)$$

em que  $DP$  (densidade de pixels) representam a quantidade de pixels por unidade de área do sensor de imagem utilizado;  $CI$  (caminho inclinado) indica o tamanho na parede lateral do prisma que é utilizado para refletir a luz e  $DF$  (distância focal) é a distância focal da lente utilizada no *set-up* AIM. Possíveis diferenças entre os valores de  $\langle v_\theta^* \rangle$  e  $\langle v_\theta \rangle$  são compensados por software através de algoritmos de pré-processamento, geração da curva SPR e extração dos parâmetros de interesse [69].

Outra forma de calibrar a detectividade do sensor SPR é alterando o ponto de operação, tendo em vista o conhecimento dos valores das resoluções instrumentais  $\langle v_\lambda \rangle$  e  $\langle v_\theta \rangle$ . No modo WIM a detectividade aumenta com o aumento do comprimento de onda [70], dessa forma, mesmo um detector com altos valores de resolução instrumental em  $\langle v_\lambda \rangle$  pode fornecer uma resposta adequada para  $D_\lambda$  quando um comprimento de onda adequado é utilizado, i.e.,  $\lambda$  com valores elevados. Já a detectividade AIM possui comportamento oposto, ou seja, decresce com o aumento do comprimento de onda [70]. Assim, para compensar a eventual baixa qualidade do sensor de imagem empregado, comprimentos de ondas curtos podem ser utilizados. A calibração do sensor em ambos os modos pode ser feita escolhendo OPs de modo que o parâmetro  $\mu$ , expresso pela equação abaixo, seja mantido próximo de 1.

$$\mu = D_\lambda/D_\theta = (S_\lambda/S_\theta) (\langle v_\theta \rangle / \langle v_\lambda \rangle). \quad (3.19)$$

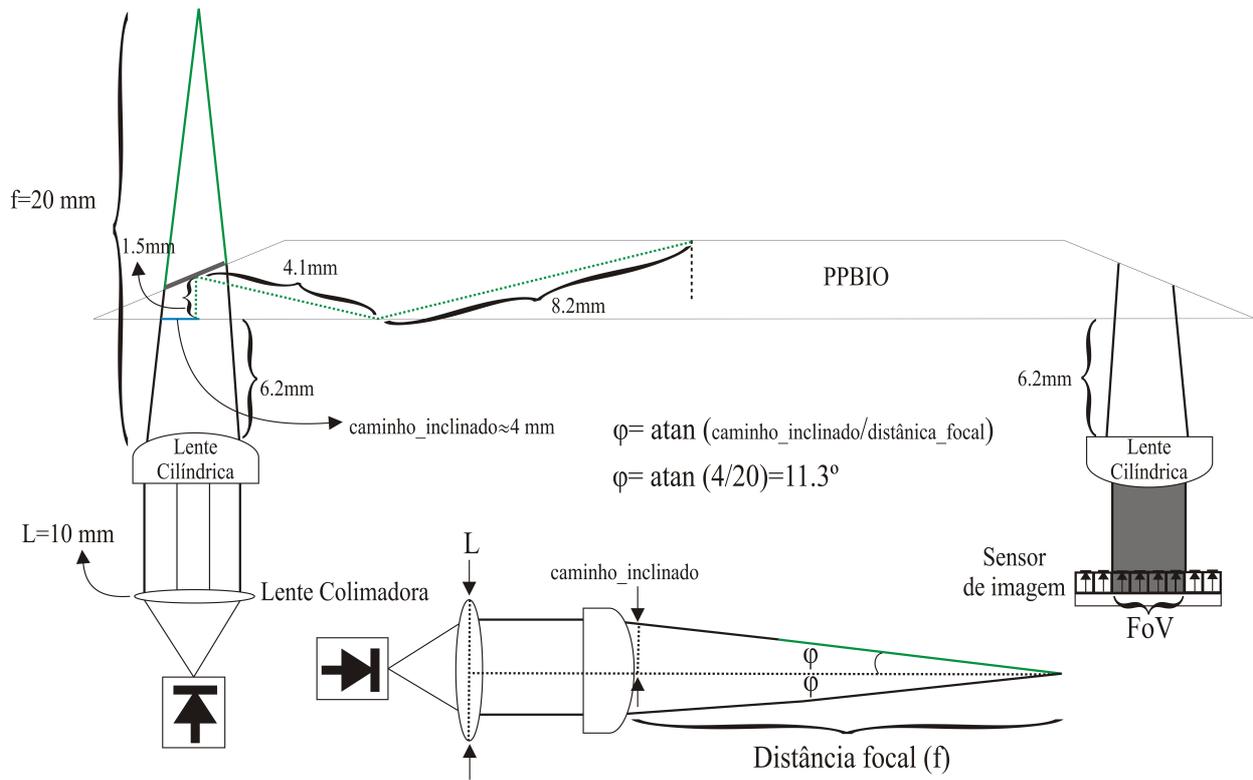


Figura 3.48: Diagrama de óptica geométrica usado para o cálculo do Campo de Visão (FoV) do PPBIO. Esquema indicando distâncias, ângulos e elementos presentes no *set-up* AIM. Para o sensor SPR desenvolvido o valor de FoV é de  $22,6^\circ$ .

### 3.4 Resumo

Neste capítulo apresentou-se os resultados do estudo computacional realizado para as estrutura multicamada investigadas. Os pontos de operação para cada sensor SPR composto pelas camadas substrato/metal/analito, amostra foram obtidos. A Tabela 3.2 apresenta um resumo dos valores dos comprimentos de onda e dos ângulos de ressonância obtidos no estudo teórico para amostra de água. Os valores de comprimento de onda são usados para escolher a fonte de luz utilizada na excitação dos SPs. Os ângulos refletem a posição em que a ressonância deve ocorrer. A utilização de fonte luminosa com comprimentos de onda diferentes podem causar alteração no OP, e assim, causar alterações na posição angular da curva SPR no modo AIM. Nessas situações, a relação pixel *vs.* ângulo pode ser utilizada para ajustar o espectro angular da curva SPR. Aspectos sobre a obtenção da relação pixel *vs.* ângulo/comprimento de onda estão apresentados no Capítulo 5. Primeiramente, a per-

Tabela 3.2: Resumos dos valores de  $\lambda_R$  e  $\theta_R$  indicando o OP de cada par substrato/metal.

Modo WIM - $\lambda_R$				
	BK7	TOPAS	PMMA	PC
Ag	658 nm	619,2 nm	779,4 nm	519,1 nm
Al	508,1 nm	455,3 nm	621,5 nm	-
Au	715,6 nm	677,1 nm	825,7 nm	606,4 nm
Cu	708,1 nm	671,6 nm	825,1 nm	610,7 nm
Modo AIM - $\theta_R$				
Ag	68,04°	67,96°	67,96°	68,04°
Al	68,12°	68,12°	68,44°	-
Au	67,96°	67,96°	67,96°	67,89°
Cu	67,89°	67,96°	67,96°	68,12°

formance do alumínio foi apresentada. Com filmes de Al, o sensor apresenta o efeito do split SPR - a separação da excitação simétrica dos SPs em comprimentos de ondas curtos (Sw) e longos (Lw). A excitação Sw, em geral, supera a excitação Lw. Em seguida, as respostas para filmes de ouro, prata e cobre foram apresentadas. A dinâmica de sensoriamento para substâncias com índices de refração na faixa de  $1,33 < n_3 < 1,39$  RIU permite caracterizar os sensores SPR.

Os parâmetros de desempenho foram apresentados para cada multicamada e os resultados para a sensibilidade e detectividade encontram-se sumarizados no **Apêndice A - Fabricação do PPBIO**. Em síntese, na comparação metal a metal o valor de  $S_\lambda$  é maior para a prata, com exceção no substrato de TOPAS em que a ressonância ocorre apenas em altos valores de índice de refração ( $>1,365$ ). Na comparação substrato a substrato, o comportamento de  $S_\lambda$  é superior em prismas de PMMA, com exceção no filme de alumínio em que o substrato TOPAS é superior por haver apenas ressonância em altos valores de índice de refração. Por último, a análise da óptica geométrica foi discutida. Para ver a resposta SPR de outros materiais consultar [40].

Comportamento da sensibilidade metal-a-metal, **BK7**: Al $\approx$ Ag>Cu>Au (WIM) e Al>Ag>Au>Cu (AIM); **TOPAS**: Al>Ag>Cu>Au (WIM) e Ag>Au>Cu>Al (AIM); **PMMA**: Ag>Cu>Au>Al (WIM) e Al>Ag>Au>Cu (AIM); **PC**: Ag>Au>Cu>Al (WIM) e Ag>Au>Cu>Al (AIM).

Comportamento da sensibilidade substrato-a-substrato, WIM: **Au, Ag, Cu**: PMMA>BK7>TOPAS>PC e **Al**: TOPAS>PMMA>BK7>PC. AIM: **Au, Ag**: PC>TOPAS>BK7>PMMA, **Cu**: PC>BK7>TOPAS>PMMA e **Al**: BK7>PMMA>TOPAS>PC.

# Capítulo 4

## Construção do sensor SPR

Após o entendimento da interação luz-matéria no sensor SPR com PPBIO, iniciou-se o processo de desenvolvimento do sensor (Ramo Mecânico da metodologia) com a confecção dos prismas. A fabricação de objetos baseados em polímeros e vidros pode ser realizada de diferentes formas, tais como prensagem à quente, moldagem por injeção e ablação a laser [71]. No caso dos polímeros escolhidos, PC (policarbonato), PMMA (polimetil-metacrilato) e TOPAS, a moldagem por injeção é o método mais utilizado.

### 4.1 Fabricação do PBBIO

A seguir, apresenta-se os principais aspectos relativos a moldagem por injeção, recozimento e polimento que ocorrem durante a fabricação do PPBIO.

#### 4.1.1 Moldagem por injeção do PBBIO

Definida as especificações geométricas do PPBIO, fabrica-se o molde. A Figura 4.1 apresenta dois moldes usados para a confecção de prismas com os polímeros supracitados. Após fabricados, a inspeção mecânica dos prismas visa pré-selecionar amostras ausentes de bolhas e fissuras. Detalhes sobre o processo de fabricação dos prisma podem ser vistos no ***Apêndice A - Fabricação do PPBIO***.

Utilizando o molde de quatro cavidades, foram manufaturas os prismas poliméricos. Os polímeros utilizados foram o TOPAS 5013 da empresa TOPAS Advanced Polymers, o

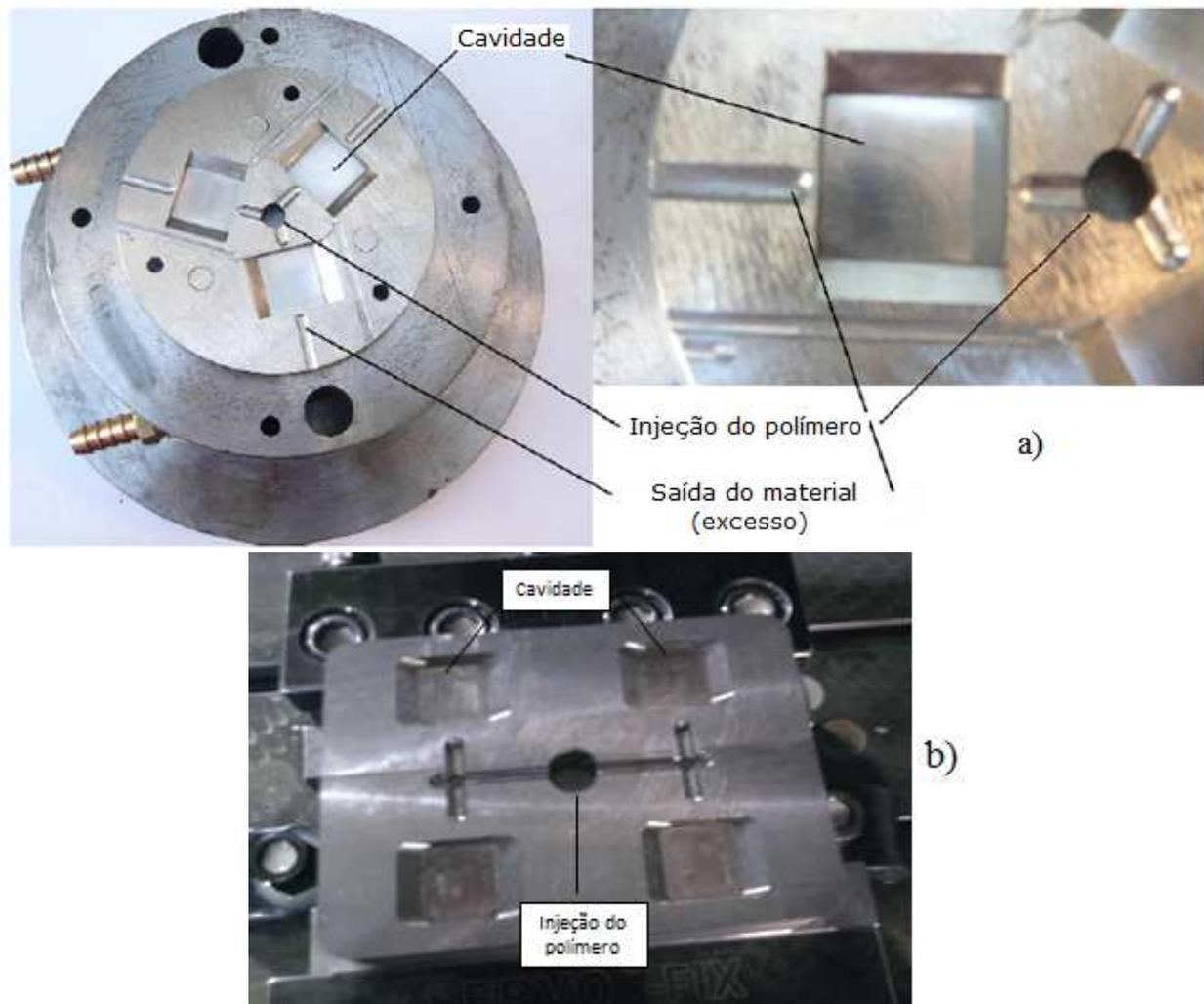


Figura 4.1: Moldes produzidos para fabricação do PPBIO. a) Molde com 3 cavidades e b) Molde com 4 cavidades.

Policarbonato Lexan HFD1830 da empresa Sabid e o PMMA Acrigel LEP100 da empresa Unigel Plásticos. Prismas de vidro foram confeccionados junto a empresa Edmund Optics usando o N-BK7 da própria Edmund. A transmitância obtida por cada prisma, ver Figura 4.2, confirma a faixa de comprimento de onda utilizada no estudo computacional, atestando a correta escolha dos produtos comercializados pelas empresas citadas.

Ao considerar a moldagem do prisma pelo processo de injeção, deve-se levar em conta a grande quantidade de fatores que podem afetar os resultados finais em termos de performance (qualidade da resposta SPR), tais como: tempo e temperatura de injeção, temperatura do molde e do material injetado, pressão de injeção, tempo de pré-aquecimento do polímero e tempo de resfriamento; além de cuidados com a manipulação e armazenamento

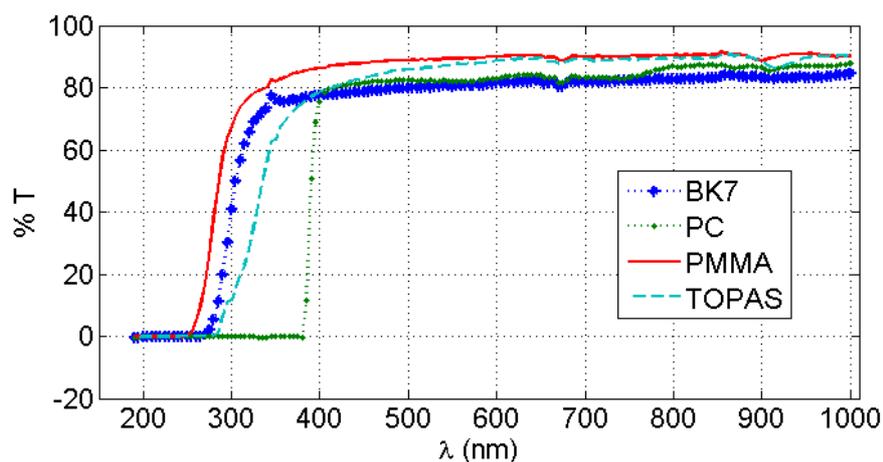


Figura 4.2: Percentual de transmitância (transparência) para os prismas fabricados com PC, PMMA, TOPAS e BK7. Dados obtidos com o espectrofotômetro FENTO 800 XI.

do material. Vale salientar que as variações nas condições de moldagem têm um efeito direto sobre as propriedades finais do produto.

#### 4.1.2 Recozimento do PPBIO

Na moldagem por injeção, as cavidades do molde se enchem injetando-se material (fluido polimérico) através de pequenos canais a elevada velocidade e sob alta pressão. As paredes internas das cavidades estão a temperaturas muito inferiores ao material e, logicamente, esfriam rapidamente a camada do material que entra em contato com elas, que se solidifica de forma instantânea. Por "cima" segue passando mais material que vai se esfriando em sucessivos níveis ou camadas para completar o ciclo de preenchimento. Estas condições geram tensões "resultantes da fricção entre as camadas, que serve para 'orientar' as moléculas na direção do fluxo e que se estabelecem na massa moldada antes que as macromoléculas possam se acomodar novamente e se livrarem dessas tensões ou deformações do seu estado natural" [71]. Sendo assim, pode-se dizer que as Tensões Residuais (*residual stress*) se originam basicamente quando uma massa quente entra em contato com uma superfície muito mais fria, devido a um processo de solidificação e resfriamento, chamado de stress térmico.

Geralmente, a tensão residual provoca uma dupla refração da luz ao atravessar um material transparente, fenômeno denominado de birrefringência (ver Figura 4.3). A birrefringência degrada o desempenho do instrumento óptico que requer manutenção óptica do

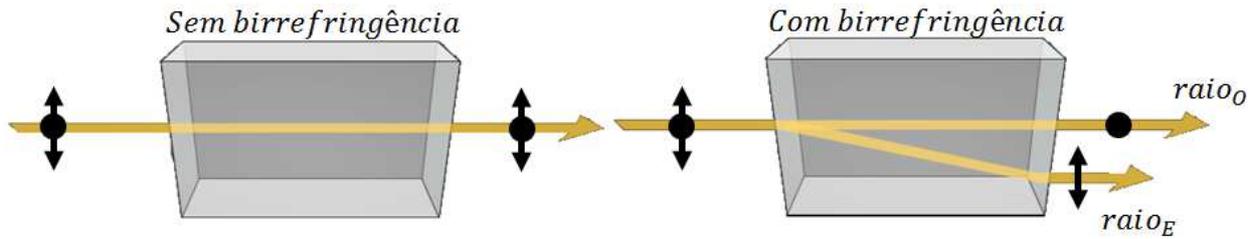


Figura 4.3: Esquema ilustrativo de uma luz polarizada atravessando um meio birrefringente e outro não birrefringente. As componentes extraordinária, mais lenta ( $\text{raio}_E$ ), e ordinária, mais rápida ( $\text{raio}_O$ ), estão indicadas.

estado da polarização da luz incidente ou da focalização da luz incidente por meio de lentes [72]. Em um material birrefringente, o campo elétrico da luz incidente pode ser decomposto em duas componentes conhecidas como raio extraordinário (paralelo à direção do eixo óptico do material) e raio ordinário (perpendicular à direção do eixo óptico do material), os quais viajam com velocidades de propagação diferentes. Isso significa que existem dois índices de refração distintos:  $n_e$  e  $n_o$  relacionados com os raios extraordinário e ordinário, respectivamente.

Essa dupla refração não ocorre se as moléculas que formam o prisma forem completamente livres de tensão residual. No entanto, quando o polímero (PC, PMMA ou TOPAS) é submetido ao processo de injeção acaba por submeter-se a irregularidades e altos níveis de tensão (devido à variação térmica, ao fluxo e ao empacotamento [71]). Com o uso de um polarímetro (ou polariscópio) é possível mensurar o stress residual do prisma. Composto por uma fonte de luz, dois polarizadores, uma placa de quarto-de-onda e um sensor de imagem (ver Figura 4.4), esse equipamento possibilita calcular a defasagem entre os raios extraordinários e ordinários do meio birrefringente. Com a rotação do segundo polarizador (denominado analisador) a intensidade da luz transmitida varia, alcançando intensidade máxima quando o eixo de polarização do analisador coincidir com o eixo do raio ordinário e intensidade mínima quando o eixo de polarização do analisador coincidir com o eixo do raio extraordinário. Essa intensidade é representada por [73]:

$$I = a^2[1 + \text{sen}2(\alpha - \beta)\text{sen}\Delta], \quad (4.1)$$

sendo  $a$  a amplitude da luz transmitida,  $\alpha$  é o ângulo de rotação do analisador,  $\beta$  é a

orientação do eixo ordinário e  $\Delta$  é o retardamento da fase produzido entre os raios E e O devido à birrefringência do material induzida pelo stress. Se o prisma não possui stress residual, então  $\text{sen}\Delta$  é zero, caso contrário,  $\text{sen}\Delta$  tem um valor finito com  $\Delta$  expresso por:

$$\Delta = \frac{2\pi Cd}{\lambda}(\sigma_1 - \sigma_2). \quad (4.2)$$

O retardamento de fase é diretamente proporcional a diferença entre os raios E e O ( $\sigma_1 - \sigma_2$ ), devido ao stress, a constante de stress óptica (C) do material e à espessura (d) do prisma. Reescrevendo (4.1) em termos de seno e cosseno, tem-se [74]:

$$I = I_a + I_{c\alpha}\cos 2\alpha + I_{s\alpha}\text{sen} 2\alpha \quad (4.3)$$

com  $I_{c\alpha} = -(s)\text{sen} 2\beta$ ,  $I_{s\alpha} = (s)\cos 2\beta$ ,  $s = a^2\text{sen}\Delta$  e  $I_a$  é a média de intensidade da imagem coletada. Assim, para calcular o retardamento de fase captura-se quatro imagens com fases deslocadas para quatro posições do analisador:  $0^\circ$ ,  $45^\circ$ ,  $90^\circ$  e  $135^\circ$  denotadas por  $I_1$ ,  $I_2$ ,  $I_3$  e  $I_4$  e definidas como:  $I_1 = I_a + I_{c\alpha}$ ,  $I_2 = I_a + I_{s\alpha}$ ,  $I_3 = I_a - I_{c\alpha}$  e  $I_4 = I_a - I_{s\alpha}$ .

Essas imagens são então processadas da forma:

$$s = \frac{[(I_3 - I_1)^2 + (I_4 - I_2)^2]^{1/2}}{2(I_1 + I_2 + I_3 + I_4)} \quad (4.4)$$

para obtenção dos parâmetros  $\Delta$  e  $\beta$

$$\Delta = \text{sen}^{-1}(s) \quad (4.5)$$

$$\beta = \frac{1}{2}\tan^{-1}\left(\frac{I_3 - I_1}{I_4 - I_2}\right) \quad (4.6)$$

e assim quantificar o stress proporcional a  $\Delta$ .

Para minimizar o efeito da birrefringência os prismas são submetidos ao processo de recozimento ou *annealing*. O recozimento é um processo em que o calor é aplicado em um material a fim de mudar sua estrutura interna, de tal forma que o material terá menos tensões residuais internas devido à relaxação das moléculas sob recozimento [75]. Usado na fabricação de vidro e na indústria metalúrgica, o recozimento é o aquecimento e o posterior

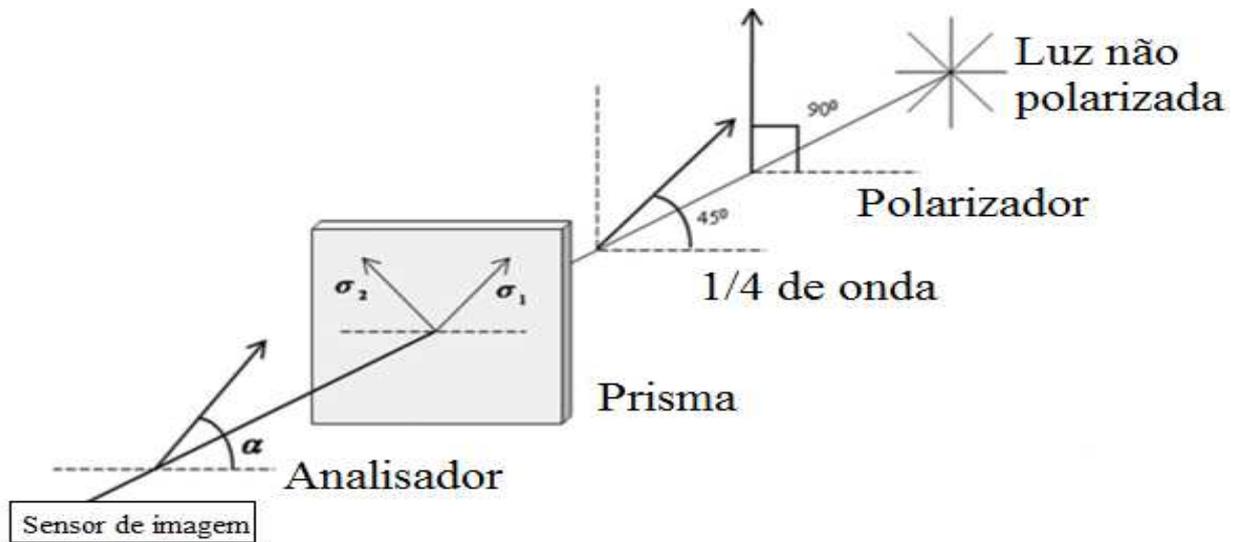


Figura 4.4: Esquema de um polariscópio. Atrás do prisma sob análise há uma luz não polarizada seguido de um polarizador e um plano de 1/4 de onda. À frente do prisma, outro polarizador (analisador) é utilizado para analisar a polarização e um sensor de imagem captura o valor da intensidade.

esfriamento lento e homogêneo do material [75]. Assim, os prismas foram aquecidos até a temperatura de relaxação das tensões a uma taxa aproximada de 7°C/h, mantidos a esta temperatura pelo tempo necessário ao relaxamento e resfriados controladamente até a temperatura ambiente, diminuindo o stress do material.

A Figura 4.5 mostra diferentes prismas sob iluminação com polarização TM, condição necessária para excitação dos SPs. Com essa polarização a luz deve ser bloqueada. O processo de recozimento consistiu no aquecimento a 75% da temperatura de fundição de cada polímero por 18 horas. Nos prismas que não possuem recozimento a luz atravessa, não obtendo-se a polarização necessária. A figura também traz imagens de prismas polidos e não polidos mostrando que esse processo também é importante para um bom resultado. Ademais, mostra-se na figura prismas manufacturados com diferentes polímeros (figura inferior), bem como imagem do prisma de vidro que é ausente de stress.

O recozimento também afeta o índice de refração do prisma ( $n$ ), tendo em vista a modificação estrutural do material provocada pelo tratamento térmico. O valor do índice de refração após uma determinada taxa de recozimento (Temperatura/Tempo) é dado por [74]:

$$n(h_x) = n(h_0) + m_d \log \left( \frac{h_x}{h_0} \right), \quad (4.7)$$

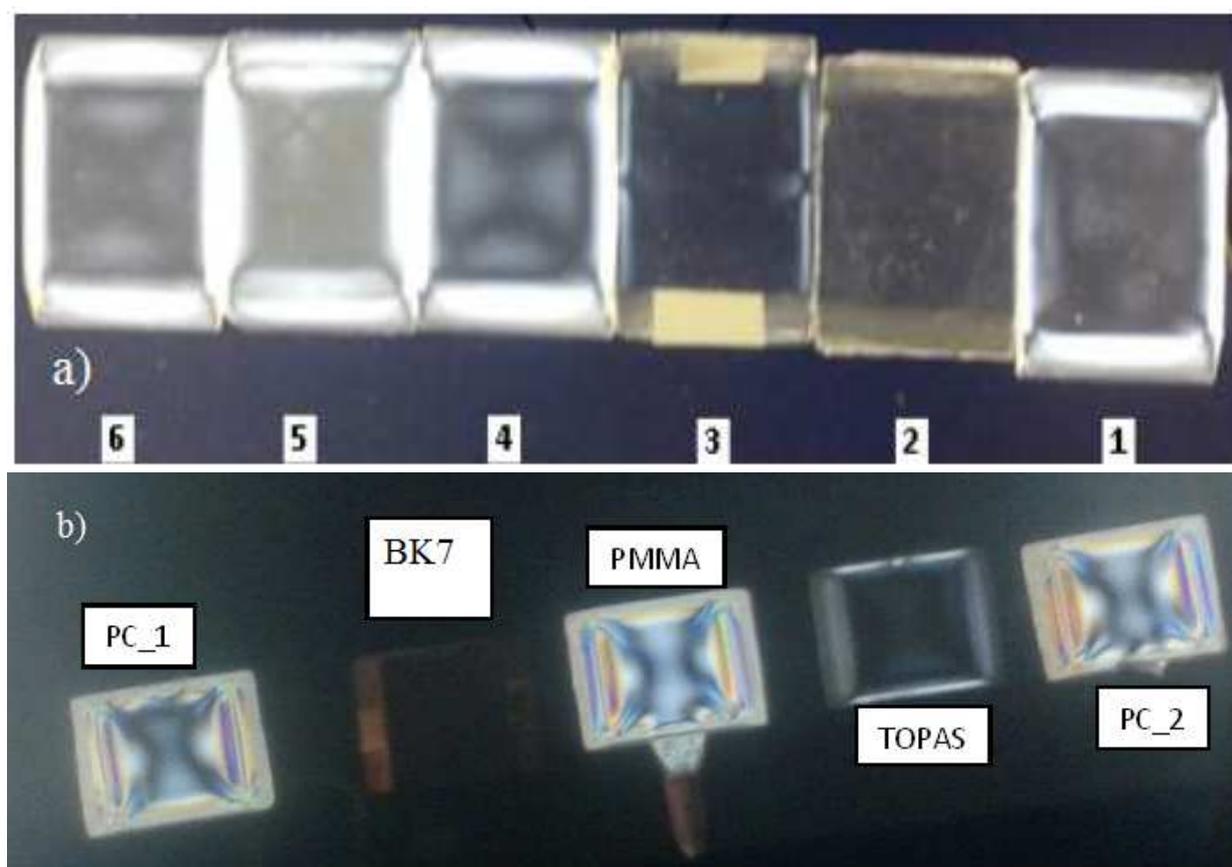


Figura 4.5: a) Fotografia para prismas com [1]-[2]-[3] e sem [4]-[5]-[6] annealing, polidos [3]-[4] e não polidos [1]-[2]-[5]-[6], todos fabricados com TOPAS e usando o molde de 3 cavidades. b) Fotografia para prismas poliméricos fabricados com o molde de 4 cavidades e prisma de vidro BK7. Prismas que passam pelo processo de injeção [PC]-[PMMA]-[TOPAS] possuem stress enquanto o prisma vidro [BK7], fabricado de forma diferente, é ausente de stress.

em que  $h_x$  é a taxa de *annealing* utilizada,  $h_0$  representa a taxa de *annealing* de referência e  $m_d$  é o coeficiente que relaciona a dependência do *annealing* com o índice de refração do material.

Como pode ser visto nas curvas SPRs para filmes de prata apresentadas na Figura 4.6, a curva experimental de BK7 é muito semelhante a curva teórica - tanto no contraste quanto na posição de mínimo - uma vez que o BK7 é ausente de birrefringência, com variação na posição de  $\lambda_R$  de 8,7 nm. O TOPAS possui menos stress mecânico, ver Fig. 4.5b), e também fornece curva SPR semelhante a curva teórica. A curva para PC possui baixo contraste mas posição de mínimo próxima, com diferença de 12 nm em relação a curva teórica. Prismas de PMMA revelaram as maiores diferenças entre as curvas SPRs teóricas e experimentais.

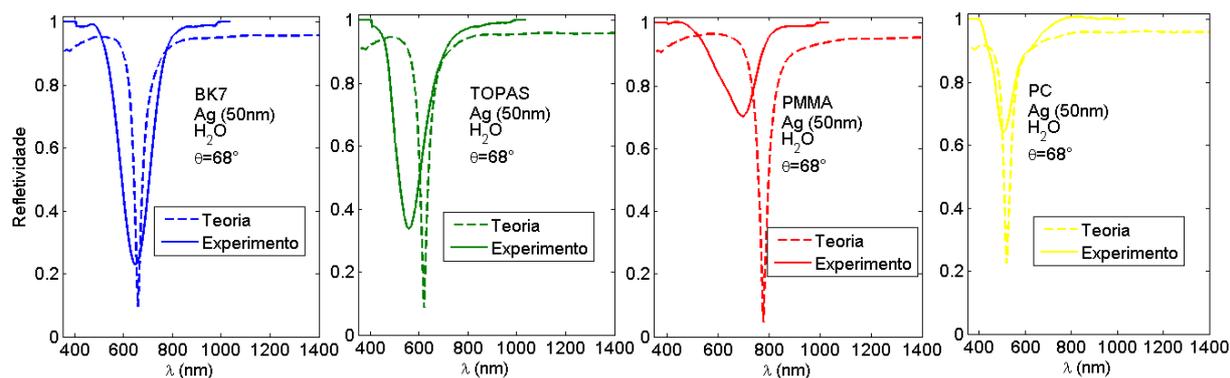


Figura 4.6: Curvas SPR para filme de prata depositado no substratos BK7, TOPAS, PMMA e PC. Curvas teóricas (linha tracejada) e experimentais (linha sólida).

A Figura 4.7 apresenta um exemplo em que a excitação existente é potencializada após o tratamento térmico. Também é retratada a situação em que há o incremento no índice de refração do prisma após o recozimento, fazendo com que o valor de mínimo desloque, aumentando a diferença em relação ao mínimo teórico. Por fim, a variação no índice de refração dos prismas após o processo de *annealing* foi pequena, em torno de  $<10^{-6}$  RIU para o substrato de TOPAS, sendo negligenciada na caracterização da resposta SPR.

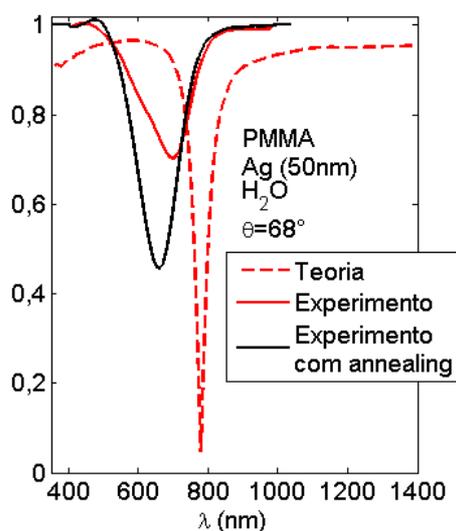


Figura 4.7: Curva SPR para prisma com (linha sólida preta) e sem (linha sólida vermelha) *annealing*, e curva SPR teórica (curva tracejada). A excitação dos SP para prisma sem *annealing* é ineficiente. Exemplo da excitação SP melhorada com o uso de *annealing*.

### 4.1.3 Polimento do PPBIO

Outro aspecto importante é o polimento dos prismas. O polimento melhora o desempenho do sensor SPR, enfatizando a profundidade/contraste da curva de ressonância reduzindo as perdas de transmitância. Como exemplo desse procedimento, a Figura 4.8 apresenta o perfil espectral das fontes luminosas utilizadas na montagem experimental. Para o modo de interrogação espectral um LED de luz branca é usado como fonte luminosa e no modo de interrogação angular utiliza-se um diodo laser ou LED quase monocromática com largura espectral pequena, centrada em um valor fixo de comprimento de onda necessário a excitação dos SPs. Antes do polimento, a absorbância em 655 nm foi de aproximadamente 0.126 o que representa uma redução de 18.19% na luz transmitida através do prisma em comparação com o ar. Após o polimento, o valor de absorbância foi de 0.035, reduzindo para 8.5% a perda na transmitância.

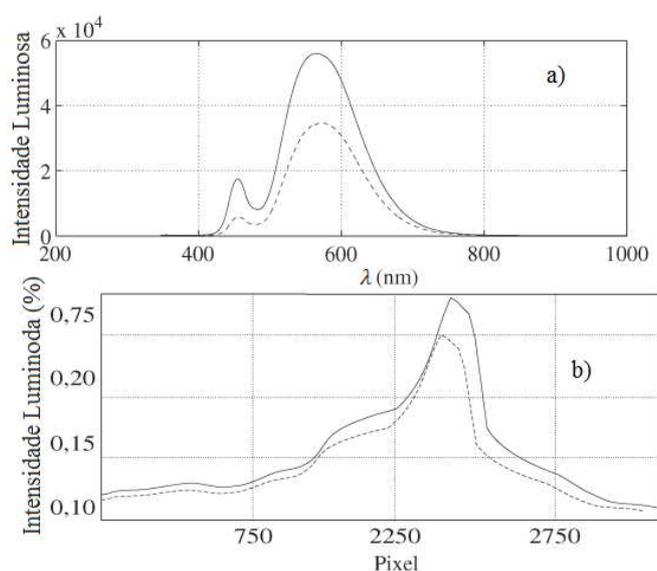


Figura 4.8: a) Perfil espectral para a fonte de luz usada no modo WIM. A linha tracejada é a resposta obtida antes do polimento. b) Perfil da fonte de luz usada no modo AIM. A linha tracejada é a resposta obtida com prismas não polidos.

## 4.2 Deposição do metal

Com o término do processo de injeção, dar-se início ao processo de deposição do metal na superfície do prisma. Dentre as técnicas para deposição de filmes finos pode-se citar os

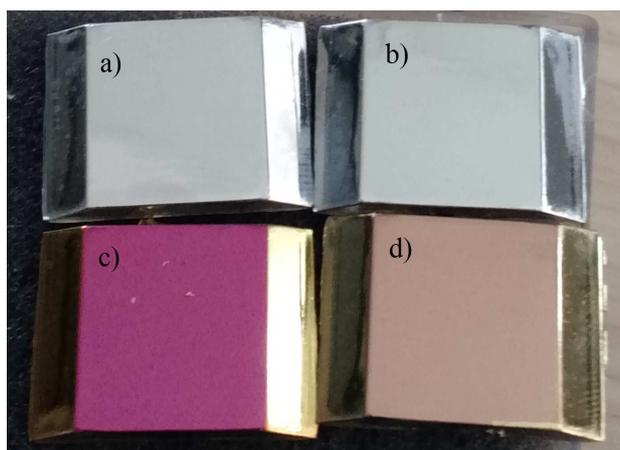


Figura 4.9: Exemplos de prisma de PC após a deposição dos metais a) Al, b) Ag, c) Cu e d) Au.

grupos baseados em i) deposição de vapor físico (PVD): como nas técnicas de *sputtering* e da evaporação por feixe de elétrons (*e-beam*); e ii) deposição de vapor químico (CVD): a exemplo do crescimento de filme (epitaxia) e da oxidação térmica [76]. Os filmes finos dos metais Ag, Au e Cu foram depositados utilizando a técnica de *sputtering* e os filmes finos de Al através de *e-beam*. Prismas cobertos com os metais analisados, são apresentados na Figura 4.9. Para deposição do metal utilizou-se o sistema de alto vácuo para a geração de películas finas Cryofox Explorer 600LT, comercializado pela empresa Polyteknik. Detalhes sobre o processo de metalização dos prismas podem ser vistos no **Apêndice B - Deposição de filmes finos**.

A qualidade da deposição é inspecionada através da continuidade da camada metálica, da espessura e da rugosidade. Todas essas medidas estão relacionadas com ajustes no tempo e na corrente de deposição, além da qualidade do polimento da superfície do prisma. Como exemplo, a Figura 4.11 mostra um resumo da investigação da qualidade do filme metálico através de micro-gráficos obtidos com um microscópio de força-atômica (AFM). Imagens em duas e três dimensões da superfície do prisma e os cálculos da rugosidade para diferentes áreas da superfície são apresentados na figura. Os valores de rugosidade foram de 523 nm na faixa A-B, de 1,08  $\mu\text{m}$  na faixa C-D, com um total de 0,034  $\mu\text{m}$  em uma área de 50 $\times$ 50  $\mu\text{m}$ . Detalhes sobre as tecnologias utilizadas na caracterização podem ser vistos no **Apêndice C - Caracterização de filmes finos**.

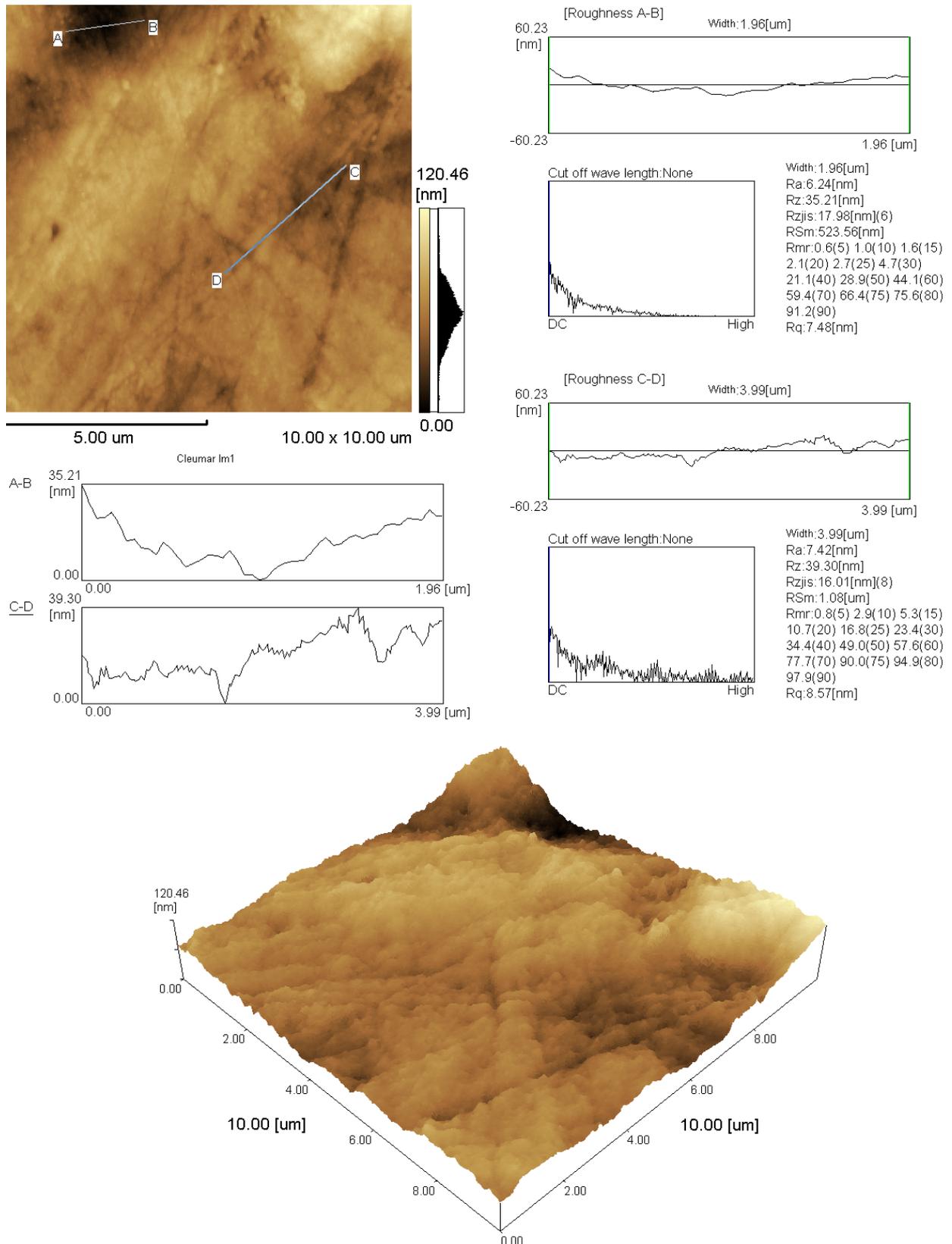


Figura 4.10: Análise da superfície metálica de ouro, depositada em um prisma manufactured com TOPAS. Imagens (2D e 3D) obtidas com um AFM para superfície de Au. Gráficos para distribuição de altura nos intervalos A-B e C-D. Resumo dos parâmetros e gráficos relativos à rugosidade da superfície extraídos com o software Gwyddion.

### 4.3 Montagem experimental

A instrumentação utilizada em (bio)sensores SPR varia de acordo com o modo de interrogação, dimensão, quantidade de elementos biológicos analisados simultaneamente, portabilidade e os demais aspectos mencionadas anteriormente (polarização da luz, comprimento de onda, tipo de metal, ângulo etc). De modo geral, o diagrama de blocos da Figura 4.11 a) apresenta os sistemas presentes nos (bio)sensores SPR.

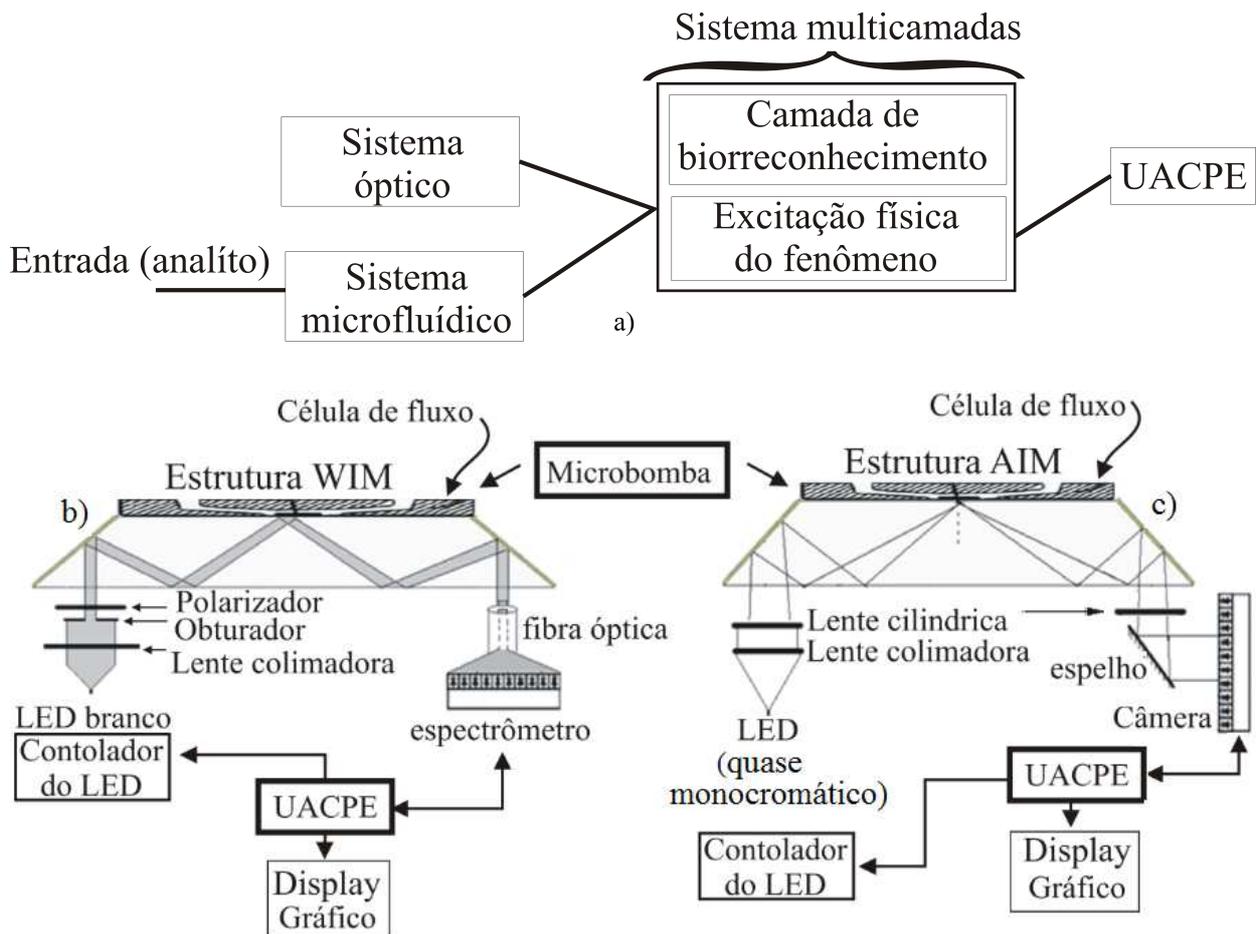


Figura 4.11: a) Diagrama de blocos de biossensor baseado na ressonância de plasmons de superfície o qual compreende 4 subsistemas diferentes: Microfluídico, Óptico, Estrutura Multicamadas e UACPE. Disposição dos elementos que excitam o fenômeno SPR usando o PPBIO. Montagem para o b) modo de interrogação espectral e c) para o modo de interrogação angular.

Para excitação do fenômeno físico, o Sistema Óptico ajusta a fonte luminosa às condições ópticas necessárias de polarização, foco e posição de incidência para a qual se atingi a reflexão interna total (RIT). O Sistema Microfluídico do sensor SPR é responsável pela

entrega (sistema propulsor, i.e., bomba peristáltica) e confinamento (célula de fluxo) da amostra, que pode ou não conter o analito (substância sob análise), à superfície sensível do sensor. Neste local, o analito entra em contato com o biorreceptor (no caso de um biossensor SPR) imobilizado na superfície metálica, produzindo uma mudança físico-química (variação de índice de refração) que pode ser identificada pelo transdutor óptico.

O Sistema (arranjo) Multicamadas compreende os materiais usados para a confecção do sensor, incluindo o par substrato/metal e uma camada bioespecífica (biorreceptor) que interage com as substâncias contidas no analito. Os biorreceptores podem ser: enzimas, micróbios, organelas, células de animais ou plantas, tecidos de plantas ou animais, anticorpos, receptores, ácidos nucleicos e DNA, entre outras substâncias. Por fim, uma Unidade de Aquisição, Controle, Processamento e Exibição (UACPE) é utilizada para aquisição dos sinais e exibição da resposta. O sistema de aquisição, processamento e visualização dos dados, informa ao usuário se o analito foi ou não detectado e também a quantidade de analito na substância, além de informações sobre especificidade, força e rapidez com que ocorreu a reação analito-biorreceptor.

De posse de prismas funcionais, i.e., livres de fissuras e bolhas, polidos, recozidos e metalizados, a montagem do set-up experimental é realizada e o protocolo experimental - procedimentos totalmente dependente do que se pretende analisar - é aplicado. A depender da estrutura que dá suporte a excitação dos SPs e da multicamada, diferentes componentes são necessários. A Figura 4.11 b) apresenta os principais elementos envolvidos na excitação SPR no modo WIM e AIM, utilizando o PPBIO em um sensor na configuração de Kretschmann.

A descrição completa de cada elemento da estrutura pode ser encontrada na referência [77]. Em síntese, no modo WIM o LED White Lambertian da empresa Luxeon Star [78] foi utilizado como fonte de luz; esse LED propicia uma facilidade de instrumentação por ser montado em uma base de metal, produz 45 lm de brilho com uma corrente máxima de 350 mA, além de possuir um longo tempo de vida, cerca de 50.000 horas. Sua resposta espectral encontra-se na Figura 4.8a).

Para colimação dos feixes de luz, a lente esférica plano-convexa LA1951 da Thorlabs foi utilizada e o polarizador TECHSPEC Linear Glass Polarizer da Edmund Optics foi usado para polarizar a luz no modo TM. Os demais elementos constituem de um obturador para

confinar a luz na parede lateral do PPBIO, uma célula de fluxo com volume aproximado de  $75 \text{ mm}^3$  e o espectrômetro USB4000 da Ocean Optics [79], que cobre a faixa de comprimento de onda entre 350 nm a 1050 nm, conversor AD integrado de 16 bits, resolução de 0.3 nm, pixels de tamanho  $8 \mu\text{m} \times 200 \mu\text{m}$  e relação sinal-ruído em torno de 300:1.

No modo AIM, utiliza-se uma fonte de luz quase monocromática com largura espectral pequena, centrada em um valor fixo de comprimento de onda a depender da multicamada. Utiliza-se duas lentes cilíndricas plano-convexas LJ1960L1 da Thorlabs e um espelho para auxiliar na instrumentação do caminho óptico. Como sensor de imagem, a câmera CMOS DCC1645C [80] comercializada pela empresa Thorlabs com resolução  $1280 \times 1024$  e 10 bits por pixel, estes com tamanho de  $3,6 \mu\text{m}^2$ , foi utilizada. Célula de fluxo, lente colimadora e polarizador (quando a fonte de luz não for polarizada) também são empregados.

Fotografia do sensor SPR composto por componentes fluidicos (célula de fluxo), componentes ópticos (lentes, prisma e polarizador), componentes eletrônicos (sensor de imagem) e por componentes mecânicos que acoplam todos os componentes, formando o instrumento óptico, é apresentado na Figura 4.12. Vale salientar que apesar de algumas peças (as metálicas) terem sido adquiridas da Thorlabs, parte dos componentes mecânicos foram desenvolvidas e impressas em impressora 3D no laboratório de biossensores da UFCG, como ilustrado na Figura 4.13.

Por fim, os softwares da UACPE são desenvolvidos para cada modo de operação uma vez que o *driver* de cada dispositivo é único e escrito em linguagem de programação diferente. Desenvolvidos em linguagem Java (modo WIM) e C# (modo AIM), os softwares são majoritariamente composto por gráficos que expressam o comportamento temporal dos parâmetros envolvidos no processo de análise de substâncias. Em síntese, o fluxograma de ações dos softwares inicia com a detecção do sensor de imagem (espectrômetro USB4000 ou câmera DCC1645C), e configuração dos parâmetros de aquisição: a exemplo do tempo de integração e de aplicação de técnicas de pré-processamento. Em seguida, tem início o processo de aquisição dos dados. O sensor é calibrado com um sinal de referência, e daí em diante, a curva SPR é calculada e apresentada. Com a curva SPR calculada, há a possibilidade de configurar os parâmetros de realce e suavização da curva para posterior extração dos parâmetros de interesse.

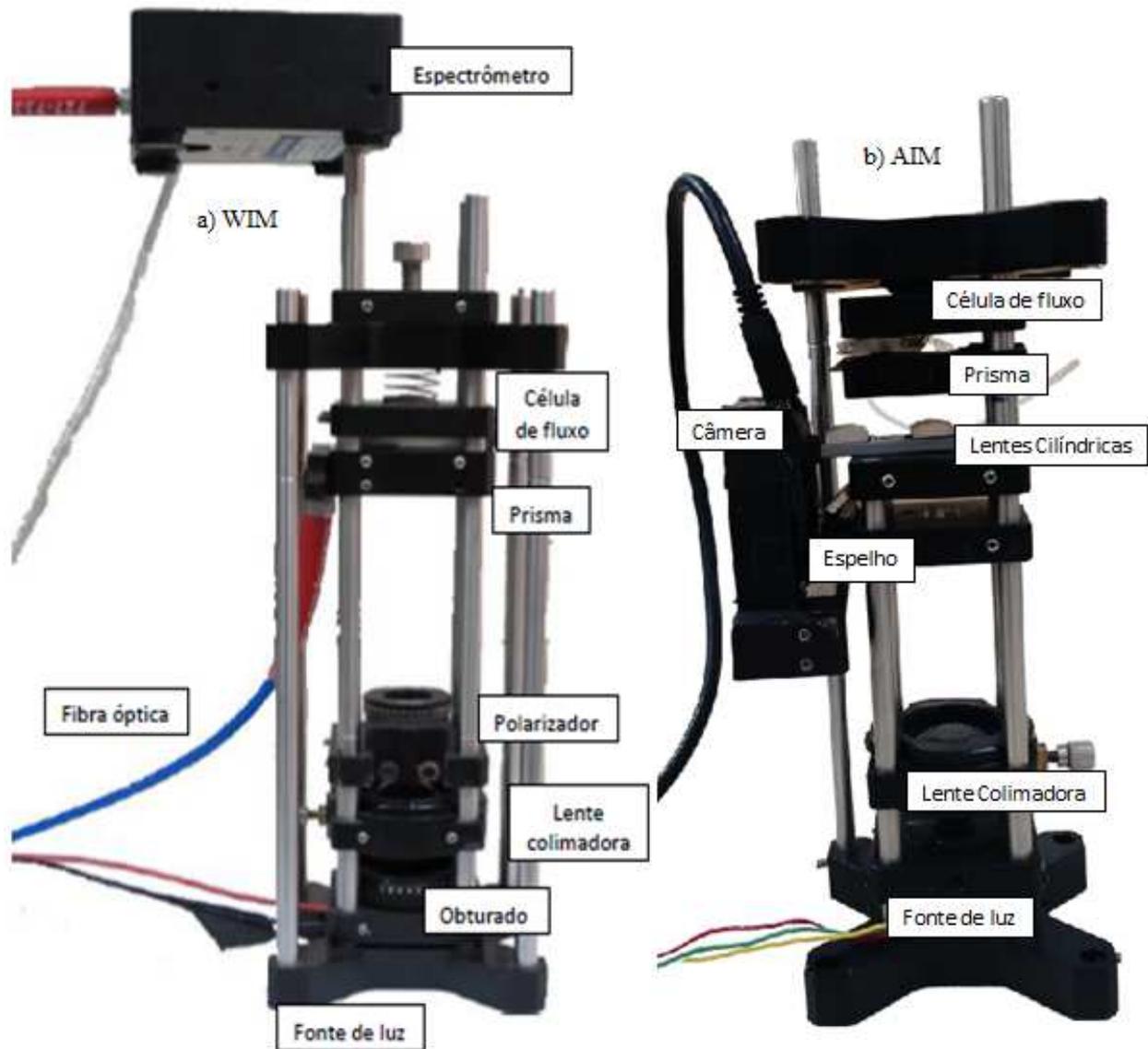


Figura 4.12: Fotografia da montagem experimental para os componentes do diagrama ilustrado na Fig.4.11, apresentando a disposição dos elementos que excitam o fenômeno SPR usando o PPBIO. a) Montagem para o modo de interrogação espectral, em que uma luz branca atravessa uma lente colimadora e um polarizador até atingir o prisma; a luz refletida na outra extremidade do prisma passa por uma fibra óptica até ser captura por um espectrômetro. b) Montagem para o modo de interrogação angular, com utilização de lente cilíndrica para focalização do espectro da fonte de luz quase monocromática; a luz refletida pelo PBBIO atingi um espelho antes de ser capturada por uma câmera empregada como detector óptico.

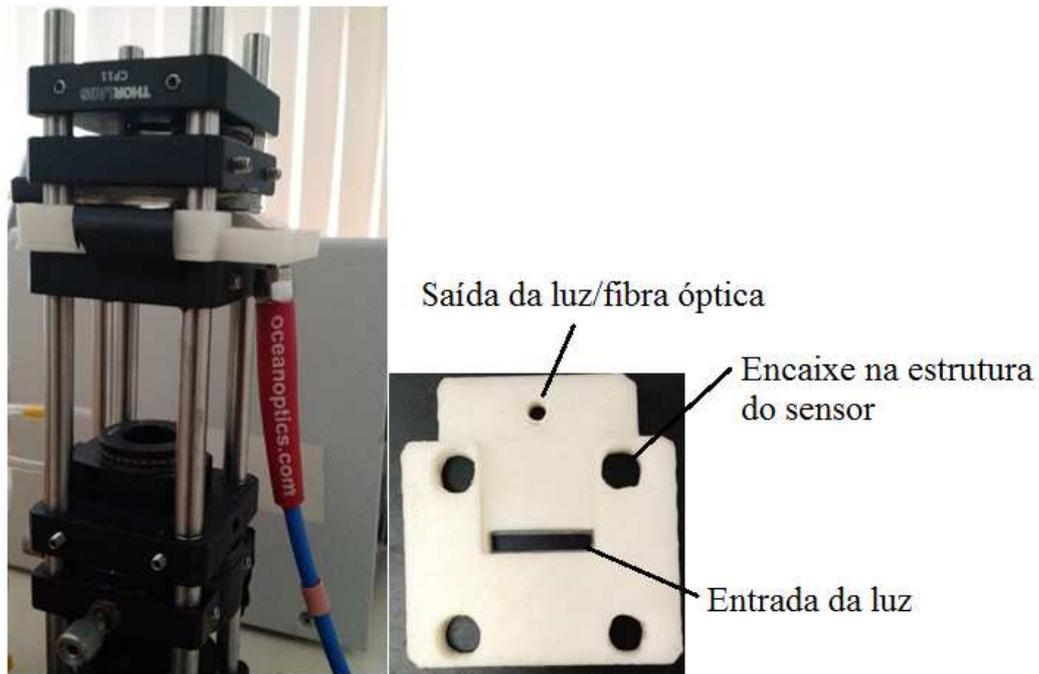


Figura 4.13: Imagem de peça impressa em impressora 3D para encaixe do prisma e da fibra óptica na montagem para o modo de interrogação espectral. Peça de polímero ABS (Acrilonitrila Butadieno Estireno).

## 4.4 Resumo

Neste capítulo apresentou-se as tarefas envolvidas no desenvolvimento do sensor SPR. Aspectos sobre a manufatura do prisma, a deposição da camada metálica e montagem dos componentes foram apresentados. Fotografias do molde, dos prismas manufaturados, dos prismas metalizados, da montagem mecânica do sensor, além de diagramas explicando e ilustrando conceitos foram apresentados.

# Capítulo 5

## Caracterização do sensor SPR

Finalizada a montagem mecânica, dar-se início aos testes experimentais do sensor SPR construído com diferentes multicamadas. A caracterização dos filmes metálicos através de elipsometria e espectroscopia demonstram a continuidade e homogeneidade dos filmes. Os ensaios experimentais e a obtenção da resposta do sensor é apresentada após uma série de processamentos. A seguir, serão descritas as etapas para o processamento do sinal de imagem capturada por um sensor de imagem de duas dimensões (2D) - procedimentos análogos são realizados quando utiliza-se sensores de imagem de uma dimensão (1D) - e em seguida apresentam-se os resultados obtidos.

### Pré-processamento do sinal

A intensidade da luz capturada pelo  $i$ -ésimo pixel do sensor de imagem é representada por  $x_{ij}(t)$ ,  $i = 1, \dots, M$  e  $j = 1, \dots, P$  de modo que a imagem bruta é expressa por:

$$I_{RAW}(t) = \begin{bmatrix} x_{11}(t) & x_{12}(t) & \cdots & x_{1P}(t) \\ x_{21}(t) & x_{22}(t) & \cdots & x_{2P}(t) \\ \vdots & & & \\ x_{M1}(t) & x_{M2}(t) & \cdots & x_{MP}(t) \end{bmatrix} \quad (5.1)$$

As fontes de ruídos que influenciam a resposta do sensor de imagem podem ser classificadas em ruídos espaciais e temporais. O ruído independente da posição do pixel e da relação pixel *vs.* ângulo, mas surge entre imagens subseqüentes de uma mesma substância,

caracterizam os ruídos temporais (RT). A primeira etapa do processamento consiste em remover o RT e obter o valor de  $\bar{x}_{ij}(t)$ :

$$\bar{x}_{ij}(t) = \frac{1}{L_t} \sum_{l=1}^{L_t} x_{ij}(t+l), \quad (5.2)$$

em que  $L_t$  representam o tamanho da janela temporal utilizada no processamento.

A segunda etapa do processamento consiste na remoção do ruído espacial, i.e., o ruído variável de pixel para pixel devido a não-uniformidade da iluminação que chega em cada pixel, juntamente com as diferenças físicas e elétricas ocorridas no processo de fabricação do sensor de imagem:

$$\hat{x}_{ij}(t) = \frac{1}{2L_s + 1} \sum_{l=-L_s}^{+L_s} \mu_{j+l} \bar{x}_{ij+l}(t), \quad \left\{ \begin{array}{l} \mu_{j+l} = 0, \\ j+l < 1, j+l > P \\ \mu_{j+l} = 1, \\ 1 \leq j+l \leq P \end{array} \right. \quad (5.3)$$

em que  $L_s$  é o tamanho da janela espacial. Estudo sobre os valores típicos de  $L_s$  e  $L_t$  podem ser encontrados na literatura [69].

### Geração da curva SPR e *multispot*

Após a remoção dos ruídos temporais e espaciais, a imagem suavizada  $I_{SUAVIZADA}$ , expressa em termos de  $\hat{x}_{ij}$ , é obtida. A resposta do sensor SPR na presença do ar,  $I_{SUAVIZADA}^{Ar}$ , é tomada como referência e a partir da injeção do analito é realizado o cálculo da curva SPR, da forma:

$$SPR(t, \theta, \lambda) = \frac{I_{SUAVIZADA}^{Ana}(t, \theta, \lambda)}{I_{SUAVIZADA}^{Ar}(t, \theta, \lambda)} \quad (5.4)$$

em que  $I_{SUAVIZADA}^{Ana}$  é a resposta do sensor na presença do analito. Esse procedimento de normalização elimina não-uniformidades espaciais e espectrais oriundas da fonte de luz e/ou do sensor de imagem.

Para um sensor de imagem com duas dimensões (2D), é possível utilizar um conjunto de linhas para gerar a curva SPR, em uma técnica denominada de *multispot*. Como apresentado em (5.5), o processamento *multispot* é composto por diferentes áreas sensíveis ( $A_i$ ) cada uma

correspondendo a uma região física na superfície sensível do sensor SPR.

$$I_{SUAVIZADA}(t) = \begin{bmatrix} \hat{x}_{11}(t) & \hat{x}_{12}(t) & \cdots & \hat{x}_{1P}(t) \\ \hat{x}_{21}(t) & \hat{x}_{22}(t) & \cdots & \hat{x}_{2P}(t) \\ \hat{x}_{31}(t) & \hat{x}_{32}(t) & \cdots & \hat{x}_{3P}(t) \\ \hat{x}_{41}(t) & \hat{x}_{42}(t) & \cdots & \hat{x}_{4P}(t) \\ \hat{x}_{51}(t) & \hat{x}_{52}(t) & \cdots & \hat{x}_{5P}(t) \\ \hat{x}_{61}(t) & \hat{x}_{62}(t) & \cdots & \hat{x}_{6P}(t) \\ \vdots & \vdots & & \vdots \\ \hat{x}_{M-11}(t) & \hat{x}_{M-12}(t) & \cdots & \hat{x}_{M-1P}(t) \\ \hat{x}_{M1}(t) & \hat{x}_{M2}(t) & \cdots & \hat{x}_{MP}(t) \end{bmatrix} \begin{matrix} A_1(t) \\ A_2(t) \\ A_3(t) \\ \vdots \\ A_S(t) \end{matrix} \quad (5.5)$$

O conjunto de áreas sensíveis formam os chamados *spots* sensíveis ( $spots = [A_1(t), A_2(t), \dots, A_S(t)]$ ), os quais indicam a quantidade de substâncias que podem ser monitorados simultaneamente pelo sensor SPR, de modo que  $SPR_i(t, \theta, \lambda) = A_i^{Ana}(t, \theta, \lambda) / A_i^{Ar}(t, \theta, \lambda)$ . A forma de agrupar as linhas que compõem uma  $A_i$  pode ser expressa pela imagem média do intervalo de linhas utilizados:

$$A_i(t) = \frac{1}{N} \sum_{-} \begin{bmatrix} x_{a1}(t) & x_{a2}(t) & \cdots & x_{aP}(t) \\ \vdots & & & \vdots \\ x_{b1}(t) & x_{b2}(t) & \cdots & x_{bP}(t) \end{bmatrix} \quad (5.6)$$

em que  $N$  é o total de pixels no intervalo  $[a \ b]$ . O uso de *multispots* mesmo que haja uma única região física sensível no sensor SPR, melhora a relação sinal-ruído [81] e a resposta dinâmica [82] do instrumento SPR.

### Relação pixel *vs.* ângulo e pixel *vs.* comprimento de onda

A obtenção da resposta angular e/ou espectral do sensor SPR exige a correspondência entre os pixels do sensor de imagem e os valores de ângulo e/ou comprimento de onda. Para obter o espectro angular (modo AIM), primeiro anota-se o valor do pixel que detém o mínimo de refletividade na condição de célula molhada. Em seguida, sabendo que o intervalo angular do PPBIO é de  $62^\circ$  a  $73^\circ$ , utilizando o OP em que o ângulo de ressonância ocorre em  $68^\circ$  a relação pixel *vs.* ângulo para o valor mínimo ocorrendo no pixel 730 pode ser expressa pela

seguinte equação:

$$\theta(p) = 2 \times 10^{-6} p^2 + 0,0119p + 57,893. \quad (5.7)$$

Para o modo WIM, a relação pixel *vs.* comprimento de onda fornecida pelo espectrômetro segue a expressão:

$$\lambda(p) = I + C_1 p + C_2 p^2 + C_3 p^3, \quad (5.8)$$

em que  $I$  é o comprimento de onda do pixel zero e  $C_1$ ,  $C_2$  e  $C_3$  são os coeficientes do polinômio obtidos no processo de calibração do espectrômetro e disponibilizados no manual do equipamento [79].

A relação pixel *vs.* ângulo/comprimento de onda é empregada para compensar desalinhamentos mecânicos no hardware do sensor. Na situação em que a fonte de luz, ou sensor de imagem, ou mesmo o próprio prisma, não estejam corretamente alinhados os feixes de entrada (Xi) e/ou saída (X8), ver Figura 3.4, não serão perpendiculares a base do prisma, alterando os valores dos ângulos/comprimentos de onda de saída capturados pelo sensor de imagem, e conseqüentemente, as posições de  $\theta_R$  e  $\lambda_R$ .

### Detecção do valor mínimo e sensorgrama

Para a extração do valor mínimo da curva SPR que representa o ângulo/comprimento de onda de ressonância, podem ser utilizadas diferentes técnicas de processamento. Dentre as técnicas mais empregadas encontram-se o ajuste polinomial e o cálculo do centróide [69, 83, 84]. O ajuste polinomial consiste em aproximar a curva SPR, ou a região próxima ao mínimo da curva, a um polinômio de grau  $n$ . O valor mínimo do polinômio é então calculado através da primeira derivada, tal que:

$$\frac{d}{d\theta} P(\theta)_{\theta=\theta_R} = 0 \quad \text{ou} \quad \frac{d}{d\lambda} P(\lambda)_{\lambda=\lambda_R} = 0. \quad (5.9)$$

O valor mínimo também pode ser considerado como sendo o centro geométrico (ou centróide) da curva SPR. A técnica é aplicada a valores que estão abaixo de um limiar pré-estabelecido, conhecido como linha base ( $LT$ ). Assim, para uma curva SPR com  $N$  pontos, o valor do centróide é calculado para os pontos com valores de intensidade abaixo da linha

base da forma:

$$C(t) = \frac{\sum_{i=1}^N (p_i(t) - LT)i}{\sum_{i=1}^N (p_i(t) - LT)}, \quad (5.10)$$

em que  $p_i$  representa o valor do ponto  $i$  da curva SPR.

A apresentação do valor de magnitude dos parâmetros  $\theta_R$ ,  $\lambda_R$ ,  $\Delta n_3$  e  $FWHM$ , é apresentada em um gráfico versus o tempo, gráfico este denominado de sensorgrama. O sensorgrama é um gráfico que mostra a evolução temporal de um determinado parâmetro de interesse.

## 5.1 Protocolo experimental

Para verificar a variação nos valores de ressonância (sensibilidade, largura, comprimento de onda e ângulo plasmônico), testes com ligações reversíveis e irreversíveis foram realizados em uma série de experimentos com camadas metálicas de ouro, prata, cobre e alumínio depositada nos polímeros TOPAS, PMMA, PC e no vidro BK7.

As substâncias em análise diferem de acordo com a camada metálica testada. Para os filmes de prata, cobre e alumínio as substâncias em análise são água deionizada e degaseificada ( $H_2O$ ), soluções de alta e baixa concentração de etanol e solução da proteína BSA (Albumina Sérica Bovina) diluída em água, a concentração de 0,1 mg/ml. Para os filmes de ouro, água deionizada e degaseificada, soluções de PBS (Phosphate Buffered Saline) e hipoclorito (Hypo.) e solução da proteína BSA diluída em PBS foram multiplexadas na entrada do sistema microfluídico.

O protocolo experimental consiste em inicialmente capturar a *célula seca*, ou seja, capturar a resposta do sensor quando o ar está em contato com a superfície sensível, obtendo uma curva SPR quase estacionário no valor 1, uma vez que o sinal atual é referente ao ar, isto é,  $I_{SUAVIDADA}^{Ana} = I_{SUAVIDADA}^{Ar}$ . No momento em que a água ( $H_2O$ ) atinge a superfície sensível do prisma, instante denominado de *célula molhada* (resposta do sensor quando se tem água por sobre a camada metálica), excita-se os SPs e com isso presencia-se uma queda acentuada na curva SPR. Nesse momento, inicia-se o monitoramento do valor mínimo da curva, e através dele, calcula-se os demais parâmetros de interesse. Ao trocar de substância, saindo da condição de célula molhada para a próxima solução, o valor do índice de refração aumenta. Em seguida, retorna-se à célula molhada e troca-se para a segunda solução.

Novamente retorna-se para a situação de célula molhada. Repete-se esse processo até que todas as substâncias sejam analisadas. Os procedimentos descritos compõem o chamado ciclo de teste, ou ensaio de teste, e são utilizados para a quantificação das variações de  $\lambda_R$ ,  $\theta_R$ ,  $\Delta n_3$  e  $FWHM$  (largura). Repetiram-se os experimentos por vários ciclos (5 vezes) e os resultados foram equivalentes, o que atesta a consistência das respostas e garante uma reprodutibilidade de experimentos. Os procedimentos descritos são aplicados nos modos AIM e WIM. Em síntese, o protocolo experimental possui as seguintes etapas:

- Inicialmente, calibra-se o dispositivo com um sinal de referência: resposta do dispositivo quando o Ar está em contato com a superfície sensível do prisma (*célula seca*);
- Em seguida, captura-se a resposta do dispositivo quando se tem água por sobre a camada metálica do prisma (*célula molhada*);
- Monitora-se a refletividade para a mudança de substância que está presente na célula de fluxo (sinal atual), calculando a resposta SPR;
- Apresenta-se os sensorgramas (evolução temporal) dos parâmetros de interesse, extraídos a partir da curva SPR;
- Calcula-se a sensibilidade para ambos os modos de operação.

### Controle de temperatura

A temperatura ambiente para realização dos experimentos foi ajustada para  $23 \pm 1^\circ\text{C}$  de forma a minimizar os efeitos térmicos nas amostras e nos componentes do sensor. O acesso ao ambiente foi controlado para evitar flutuações térmicas no momento dos experimentos.

## 5.2 Resultados experimentais: curvas SPRs

Nessa sessão são apresentadas as curvas SPR, teórica e experimental, da água para as diferentes multicamadas.

A Figura 5.1 apresenta as curvas SPRs para filmes de prata. No modo WIM, todos os substratos apresentam curvas com valores de  $\lambda_R$  próximos aos das curvas teóricas. PMMA

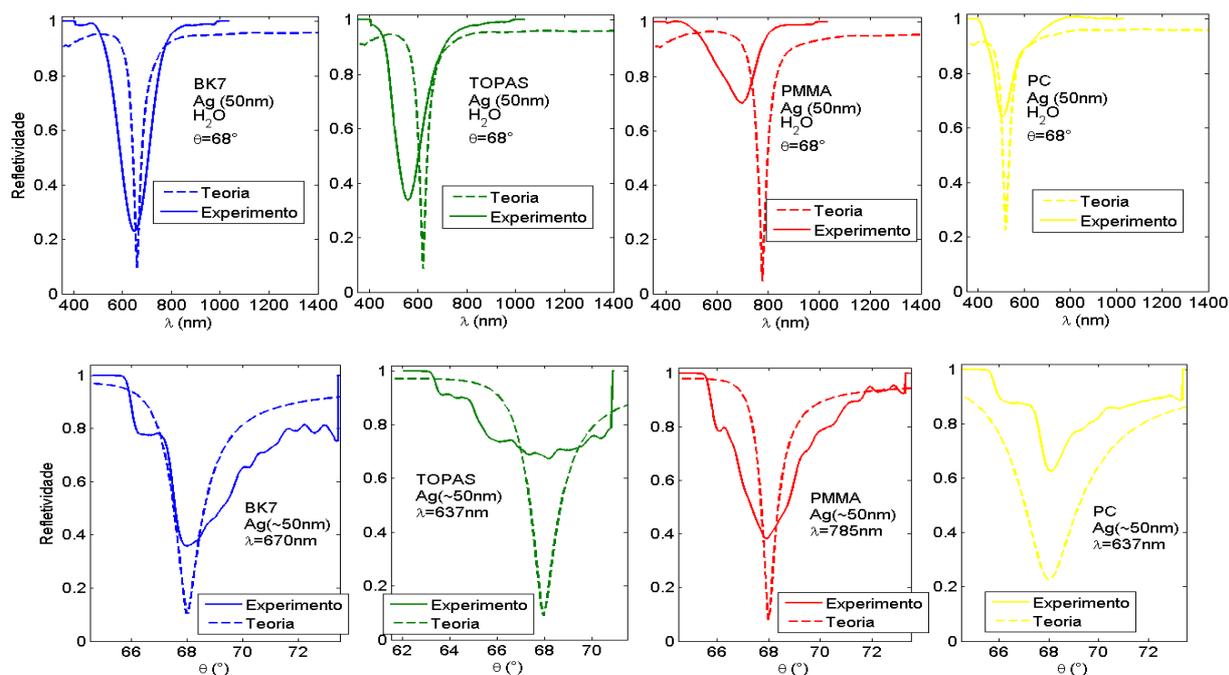


Figura 5.1: Curvas SPRs teóricas e experimentais para filmes de **prata** com 50 nm de espessura, depositado nos substratos BK7, TOPAS, PMMA e PC nos modos WIM (os quatro gráficos superiores) e AIM (os quatro gráficos inferiores).

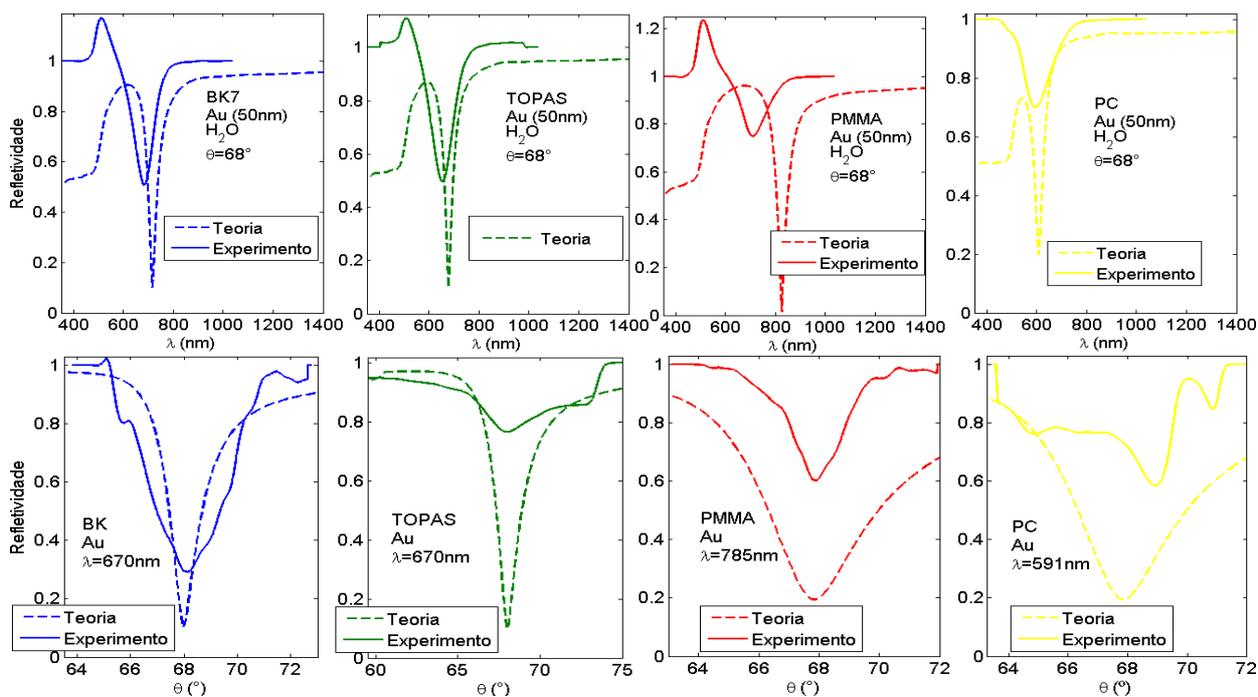


Figura 5.2: Curvas SPRs teóricas e experimentais para filmes de **ouro** com 50 nm de espessura, depositado nos substratos BK7, TOPAS, PMMA e PC nos modos WIM (superior) e AIM (inferior).

e PC apresentaram baixos valores contraste/profundidade. No modo AIM, BK7 e PMMA apresentaram curvas com maior contraste/profundidade. TOPAS apresentou a pior curva SPR. Vale ressaltar que o valor de  $\lambda_R$  experimental para o par TOPAS/Ag foi de 565,8 nm e o diodo laser mais próximo a esse valor, disponível para utilização, era de  $\lambda = 637$  nm. Desse modo, o Ponto de Operação ideal não foi obtido e a excitação dos SP foi comprometida.

A Figura 5.2 apresenta as curvas SPRs da água para filmes de ouro. No modo WIM, as curvas SPR apresentaram contraste/profundidades de BK7-55%, TOPAS-40%, PMMA-35% e PC-37,5% em relação aos valores teóricos. BK7 e PC apresentam valores de  $\lambda_R$  mais próximos aos valores previstos com modelo de Fresnel do que TOPAS e PMMA. As curvas para BK7 e PMMA apresentam picos próximo a 510 nm, devido às imperfeições do filme metálicos (arranhões), as quais fornecerem momento físico aos fótons incidentes suficiente para que haja o acoplamento com a SPP. Para maiores detalhes consultar [33, 85, 86]. No modo AIM, as curvas apresentam bom contraste/profundidade para BK7, aproximadamente 78%, moderado para PMMA (44%) e baixo para o TOPAS e PC (27%). Os valores de FWHM para BK7 e PMMA são semelhantes aos valores teóricos.

As curvas SPRs da água para filmes de cobre encontram-se na Figura 5.3. As curvas do modo WIM assemelham-se as curvas teóricas em termos de FWHM e  $\lambda_R$ . As curvas AIM foram obtidos com os diodos lasers cujos comprimentos de onda mais se aproximavam aos valores de  $\lambda_R$  obtidos no modo WIM. BK7 possui valor de contraste/profundidade bastante acentuado, enquanto os prismas poliméricos apresentaram valores moderados/baixos.

Por fim, a Figura 5.4 apresenta as curvas SPRs da água para filmes de alumínio. O efeito do SPR *splitting* não foi obtido devido ao perfil espectral da fonte luz utilizada, como mencionado no Capítulo 3. BK7 e PMMA apresenta bons valores de contraste e TOPAS valor moderado. Como esperado, PC possui baixa profundidade/contraste da curva SPR caracterizando uma fraca excitação dos plasmas de superfície. No modo AIM, BK7 apresenta curva SPR com boa profundidade.

### Considerações: teoria $\times$ experimento

As distorções de profundidade, largura e posição do mínimo entre as curvas experimentais e teóricas se devem a características inerentes ao processo de fabricação dos prismas a

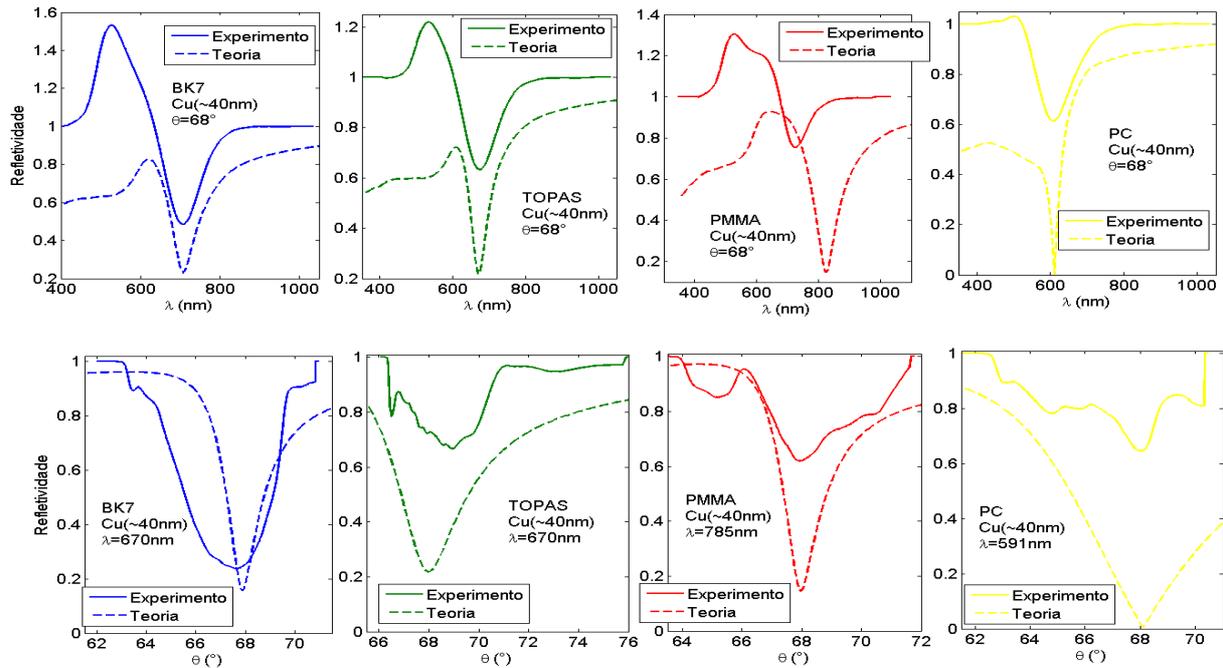


Figura 5.3: Curvas SPRs teóricas e experimentais para filmes de  **cobre** com 40 nm de espessura, depositado nos substratos BK7, TOPAS, PMMA e PC nos modos WIM (superior) e AIM (inferior).

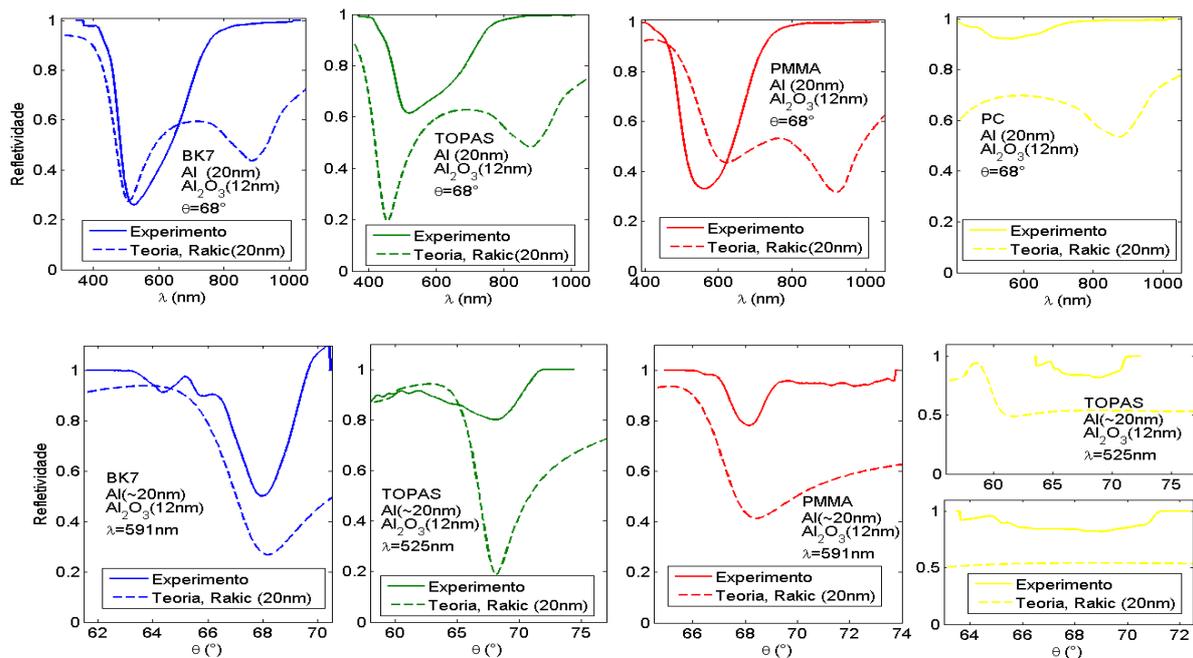


Figura 5.4: Curvas SPRs teóricas e experimentais para filmes de  **alumínio** com 20 nm de espessura, depositado nos substratos BK7, TOPAS, PMMA e PC nos modos WIM (superior) e AIM (inferior).

exemplo da rugosidade e da birrefringência, das perdas de qualidade da imagem devido as reflexões nos espelhos das superfícies laterais inclinadas e a arranhões na superfície de metal. Além disso, a diferença entre a faixa espectral da fonte de luz usada na obtenção das curvas teóricas e a utilizada nos experimentos também contribuem para essas distorções. Desvios do ângulo de ressonância do OP no modo AIM devido a essa diferença espectral, são corrigidos na relação pixel *vs.* ângulo. Ademais, fatores como absorção, espalhamento, radiação e transferência de calor, não computados no modelo teórico, afetam a resposta dos sensores SPR. De todo modo, as previsões teóricas são imprescindíveis para a correta construção do sensor, revelando o ponto de operação de cada arranjo multicamada.

Para contemplar estes fatores na modelagem a fim de melhorar a aderência entre teoria e experimentos, pode-se expandir o modelo de Fresnel de modo que tais fatores complementem a AF como termos aditivos, a exemplo da rugosidade [60], e/ou que o efeito de cada fator seja acrescentado na AF em termos de sobreposições, a exemplo da convolução da resposta SPR para os comprimentos de onda presentes no espectro da fonte de luz.

### 5.3 Resultados experimentais: sensorgramas

Nessa sessão são apresentados os sensorgramas da aplicação do protocolo experimental para as diferentes multicamadas.

Um exemplo de sensorgrama é apresentado na Figura 5.5. Na figura é ilustrado o ciclo experimental para as substâncias na seguinte ordem  $H_2O \rightarrow BSA \rightarrow H_2O \rightarrow Hypo. \rightarrow H_2O$ . A mudança da substância em contato com a superfície sensível do PPBIO, provoca uma alteração no parâmetro de interesse. A análise de Fresnel fornece os valores do parâmetro investigado apenas nas regiões de regime permanente, não contemplando os aspectos envolvidos durante a transição entre as substâncias, situação em que frações de duas amostras encontram-se simultaneamente em contato com o sensor.

Em experimentos com ligações irreversíveis, tipicamente as fases de um sensorgrama compreendem a **linha base**: calibração do sensor para uma substância conhecida; **adsorção**: início da injeção da solução de proteína; **monolayer**: regime permanente, saturação no valor do parâmetro de interesse; **dissociação**: remoção das moléculas em suspensão que não aderiram à superfície metálica; **lavagem**: injeção de substância para limpar a superfície

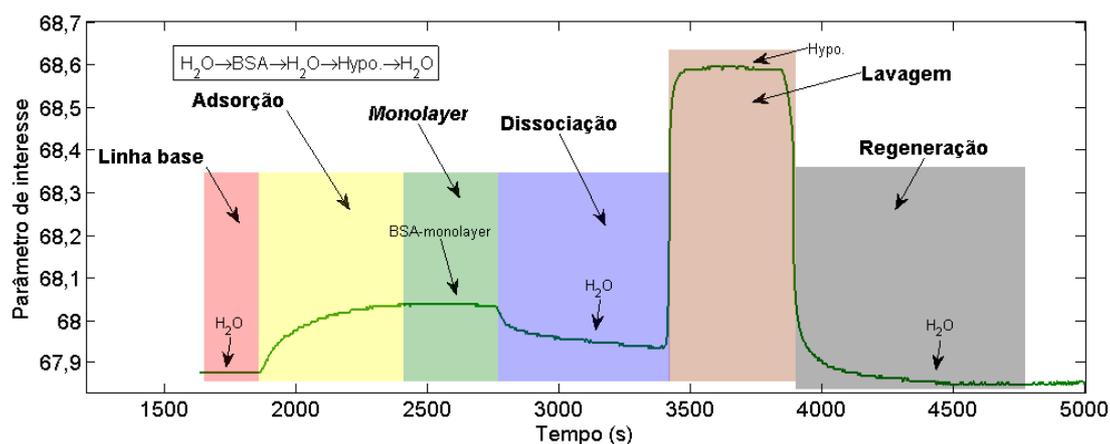


Figura 5.5: Exemplo de um sensorgrama para o ciclo  $H_2O \rightarrow BSA \rightarrow H_2O \rightarrow Hypo. \rightarrow H_2O$ . Destaque para as fases de um sensorgrama: linha base, adsorção, monolayer, dissociação, lavagem e regeneração.

e remover as moléculas fixadas na fase de adsorção e **regeneração**: retorno para a condição inicial de calibração.

O uso sequencial do transdutor por vários ciclos experimentais de adsorção, dissociação, limpeza e regeneração provoca alterações e desgastes na superfície metálica. Assim, os tempos necessários para que se atinja o regime permanente para uma determinada substância pode ser diferente a medida em que se vai utilizando o sensor.

Por fim, menciona-se que a resolução instrumental do sensor SPR é medida através do desvio padrão de uma região do sensorgrama que esteja no regime permanente. Dessa forma, o valor da resolução instrumental quantifica a qualidade da resposta de toda a instrumentação utilizada na construção do sensor.

### Sensorgramas para filmes de prata

Os primeiros experimentos foram realizados em prismas metalizados com filmes de prata e os sensorgramas encontram-se nas Figuras 5.6, 5.7, 5.8 e 5.9.

Os experimentos foram realizados no mesmo dia da deposição do metal para minimizar o efeito da oxidação da camada metálica. Os valores experimentais da variação do índice de refração, do ângulo de ressonância no modo AIM e do comprimento de onda de ressonância no modo WIM para cada solução, usando o substrato BK7, estão apresentados nos sensorgramas da Figura 5.6. Um resumo dos resultados experimentais encontram-se na Tabela 5.1.

O ciclo experimental seguiu a sequência  $H_2O \rightarrow Etanol25\% \rightarrow H_2O \rightarrow Etanol12,5\% \rightarrow H_2O \rightarrow BSA \rightarrow H_2O \rightarrow Etanol25\% \rightarrow H_2O$  para o modo AIM e  $H_2O \rightarrow Etanol25\% \rightarrow H_2O \rightarrow Etanol12,5\% \rightarrow H_2O \rightarrow BSA \rightarrow H_2O \rightarrow Etanol12,5\% \rightarrow H_2O$  no modo WIM.

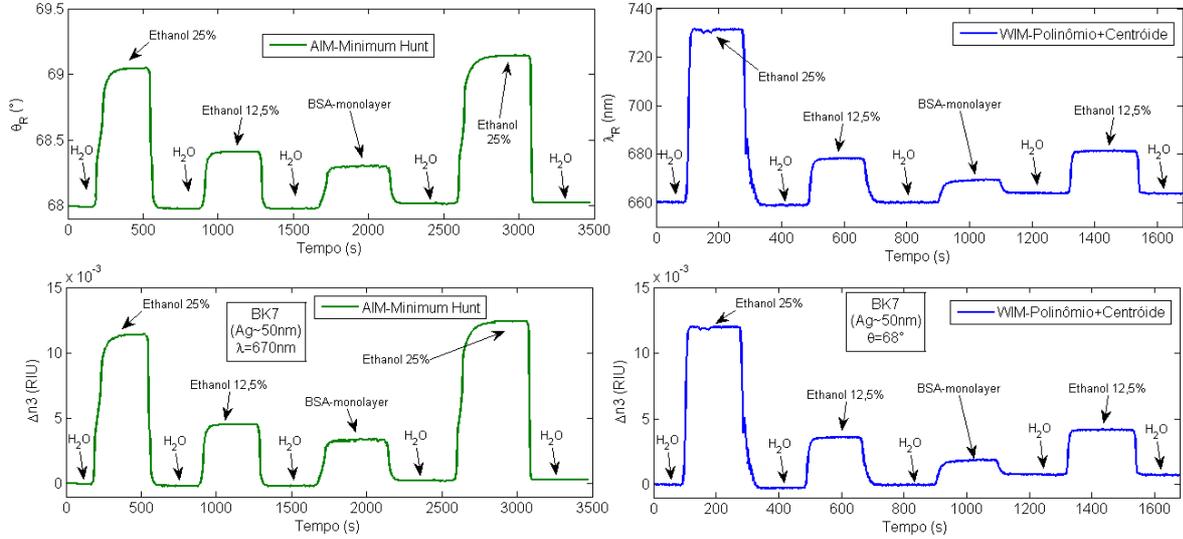


Figura 5.6: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **prata** depositado no substrato **BK7**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Etanol* de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida *Etanol* de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Etanol* e retorno para  $H_2O$ .

Tabela 5.1: Valores de  $\lambda_R$ ,  $\theta_R$ ,  $\Delta n_3$ ,  $S_\lambda$ ,  $S_\theta$ ,  $D_\lambda$ ,  $D_\theta$  e Resolução Instrumental para o par BK7/Ag nos modos WIM e AIM.

Ag - BK7				
Substância	WIM		AIM	
↓	$\lambda_R$ (nm)	$\Delta n_3$ (RIU)	$\theta_R$ (°)	$\Delta n_3$ (RIU)
$H_2O$	660,0	-	67,99	-
Etanol 25%	731,3	$1,20 \times 10^{-2}$	69,04	$1,144 \times 10^{-2}$
Etanol 12,5%	678,20	$3,593 \times 10^{-3}$	68,41	$4,514 \times 10^{-3}$
BSA	669,30	$1,863 \times 10^{-3}$	68,3	$3,373 \times 10^{-3}$
Desempenho				
Sensibilidade	$S_\lambda = 5.333,01 \text{ nm/RIU}$		$S_\theta = 91,26 \text{ °/RIU}$	
Resolução Instrumental	WIM: $\Delta \lambda_R = 0,1499 \text{ nm}$ com $\Delta n = 3,0739 \times 10^{-5} \text{ RIU}$		AIM: $\Delta \theta_R = 0,0031 \text{ °}$ com $\Delta n = 2,3123 \times 10^{-5} \text{ RIU}$	
Detectividade	$D_\lambda = 3,555 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$		$D_\theta = 2,943 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$	

A mudança  $H_2O \rightarrow Etanol25\%$  significa uma variação no valor de  $n_3$  de  $1,2 \times 10^{-2}$  RIU, o que acarreta uma variação no comprimento de onda de  $\Delta\lambda_R = 71,3$  nm. Para uma variação no índice de refração de  $\Delta n_3 = 1,5 \times 10^{-2}$  RIU, a AF indica uma variação de 71,3 nm em  $\lambda_R$  (ver seção 3.2.4), muito próxima ao valor obtido experimentalmente. No modo AIM, a mudança  $H_2O \rightarrow Etanol25\%$  implica em  $\Delta n_3 = 1,14 \times 10^{-2}$  RIU, com  $\Delta\theta_R = 1,05^\circ$ . Para uma variação de  $1,0 \times 10^{-2}$  RIU no índice de refração, a AF no modo AIM fornece uma variação de  $1,03^\circ$  no valor de  $\theta_R$ .

A injeção de proteína na superfície sensível do PPBIO resulta em um aumento contínuo da variação do índice de refração, até que se atinja a saturação. Esse momento é denominado de *monolayer* ou monocamada irreversível. A transição  $BSA \rightarrow H_2O$  remove apenas as moléculas que não fixaram à superfície metálica, resultando em o valor de  $n_3$  maior que o da água. Caso não ocorra a fixação de nenhuma molécula, devido a oxidação da superfície metálica por exemplo, a mudança  $BSA \rightarrow H_2O$  não resulta em alteração de  $n_3$  e com isso, retorna-se a situação de célula molhada.

Os valores de sensibilidade óptica alcançáveis foram de  $S_\lambda = 5.333,01$  nm/RIU e  $S_\theta = 91,26$  °/RIU. Se comparados aos valores teóricos apresentados nas Figuras 3.43 (WIM) e 3.45 (AIM) os valores experimentais representam 91,94% e 69,22% destes valores respectivamente. A detectividade mostra que o sensor composto pelo par BK7/Ag, possui melhor desempenho operando no modo WIM do que no modo AIM nas condições investigadas.

Os resultados para filmes de prata depositados nos substratos TOPAS, PMMA e PC estão sumarizados nas Tabelas 5.2, 5.3 e 5.4. Assim como nos resultados com BK7, o modo WIM apresentou desempenho superior ao modo AIM para os polímeros TOPAS e PC. O sensor com PPBIO de PMMA foi o único a apresentar melhor desempenho no AIM do que no modo espectral. A configuração PMMA/Ag no modo AIM, também apresentou os menores valores na variação de  $\theta_R$  para uma determinada substância. Tais resultados foram obtidos com o algoritmo que combina o método do centróide e do polinômio, exigindo maior complexidade na extração do valor mínimo. Vale salientar que as Figuras 5.6, 5.7, 5.8 e 5.9 apresentam os sensorgramas para o método de extração do mínimo que apresentou os melhores resultados para o respectivo par substrato/metal.

A resolução instrumental foi medida no regime permanente da solução  $Etanol12,5\%$  para os dois modos de operação. As flutuações nos valores de  $\lambda_R$  no regime permanente foram

de aproximadamente 0,15 nm, semelhante ao valor de  $\langle \nu_\lambda \rangle = 0,1$  nm presente na Tabela 3.1. Para o modo AIM, a resolução instrumental no regime permanente foi de  $0,0031^\circ$ , um valor de 15% a menos na qualidade da resposta do sensor de BK7/Ag em relação ao comportamento esperado da instrumentação. Assim, no modo angular o limite de detecção para variações de índice de refração foi na ordem de  $2,3 \times 10^{-5}$  RIU, resultado semelhante aos encontrados na literatura [1, 4, 6, 8, 14, 83, 87].

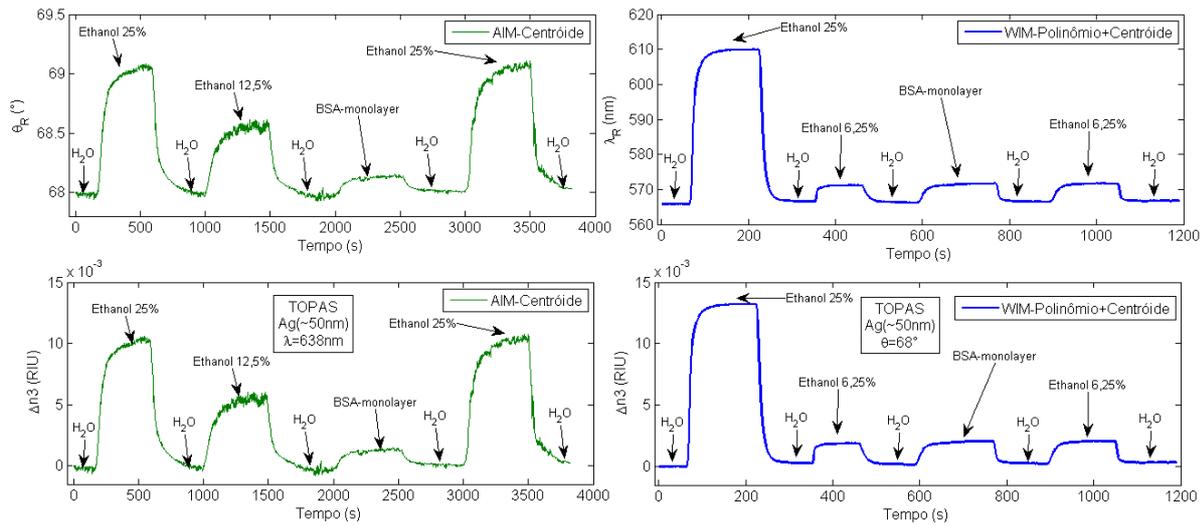


Figura 5.7: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **prata** depositado no substrato **TOPAS**.

Tabela 5.2: Valores de  $\lambda_R$ ,  $\theta_R$ ,  $\Delta n_3$ ,  $S_\lambda$ ,  $S_\theta$ ,  $D_\lambda$ ,  $D_\theta$  e Resolução Instrumental para o par TOPAS/Ag nos modos WIM e AIM.

Ag - TOPAS				
Substância	WIM		AIM	
↓	$\lambda_R$ (nm)	$\Delta n_3$ (RIU)	$\theta_R$ (°)	$\Delta n_3$ (RIU)
H <sub>2</sub> O	565,8	-	67,99	-
Etanol 25%	609,9	$1,320 \times 10^{-2}$	69,07	$1,032 \times 10^{-2}$
Etanol 12,5%	-	-	68,61	$5,804 \times 10^{-3}$
Etanol 6,25%	571	$1,852 \times 10^{-3}$	-	-
BSA	571,6	$2,064 \times 10^{-3}$	68,14	$1,483 \times 10^{-3}$
Desempenho				
Sensibilidade	$S_\lambda = 2.986,25$ nm/RIU		$S_\theta = 104,21$ °/RIU	
Resolução Instrumental	WIM: $\Delta \lambda_R = 0,0548$ nm com $\Delta n = 2,0399 \times 10^{-5}$ RIU		AIM: $\Delta \theta_R = 0,0294^\circ$ com $\Delta n = 2,8697 \times 10^{-4}$ RIU	
Detectividade	$D_\lambda = 5,440 \times 10^4$ RIU <sup>-1</sup>		$D_\theta = 3,544 \times 10^3$ RIU <sup>-1</sup>	

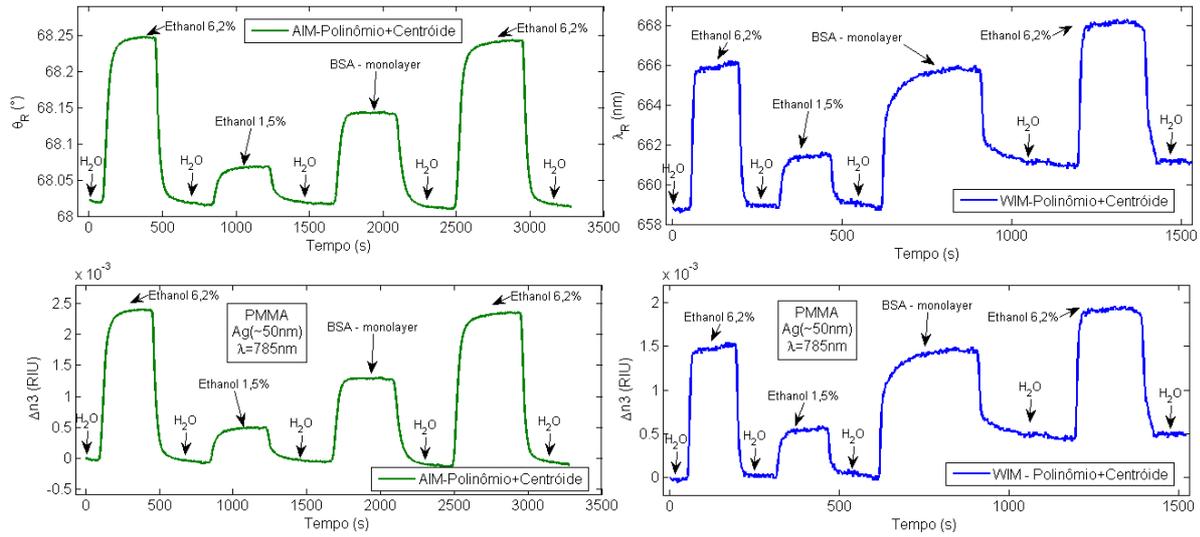


Figura 5.8: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **prata** depositado no substrato **PMMA**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Etanol* de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida *Etanol* de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Etanol* e retorno para  $H_2O$ .

Tabela 5.3: Valores de  $\lambda_R$ ,  $\theta_R$ ,  $\Delta n_3$ ,  $S_\lambda$ ,  $S_\theta$ ,  $D_\lambda$ ,  $D_\theta$  e Resolução Instrumental para o par PMMA/Ag nos modos WIM e AIM.

Ag - PMMA				
Substância	WIM		AIM	
↓	$\lambda_R$ (nm)	$\Delta n_3$ (RIU)	$\theta_R$ (°)	$\Delta n_3$ (RIU)
$H_2O$	658,7	-	68,02	-
Etanol 6,25%	666,1	$1,504 \times 10^{-3}$	68,25	$2,401 \times 10^{-3}$
Etanol 1,5%	661,5	$5,576 \times 10^{-4}$	68,07	$4,931 \times 10^{-4}$
BSA	665,8	$1,475 \times 10^{-3}$	68,14	$1,289 \times 10^{-3}$
Desempenho				
Sensibilidade	$S_\lambda = 4.918,43 \text{ nm/RIU}$		$S_\theta = 96,76 \text{ °/RIU}$	
Resolução Instrumental	WIM: $\Delta \lambda_R = 0,0913 \text{ nm}$ com $\Delta n = 1,9132 \times 10^{-5} \text{ RIU}$		AIM: $\Delta \theta_R = 0,00061^\circ$ com $\Delta n = 6,5545 \times 10^{-6} \text{ RIU}$	
Detectividade	$D_\lambda = 5,385 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$		$D_\theta = 1,580 \times 10^5 \text{ RIU}^{-1}$	

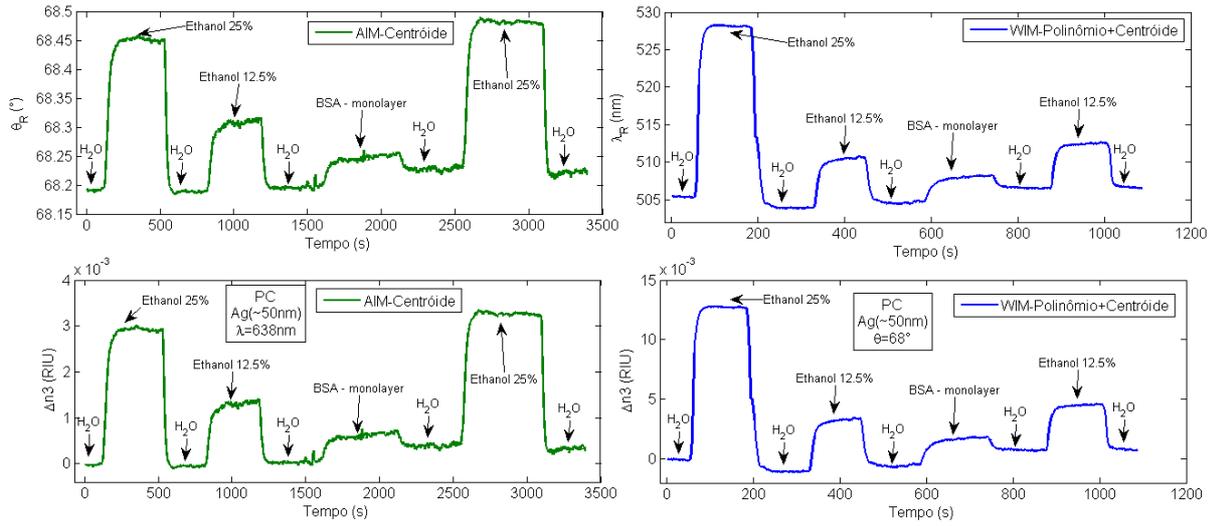


Figura 5.9: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **prata** depositado no substrato **PC**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Etanol* de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida *Etanol* de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Etanol* e retorno para  $H_2O$ .

Tabela 5.4: Valores de  $\lambda_R$ ,  $\theta_R$ ,  $\Delta n_3$ ,  $S_\lambda$ ,  $S_\theta$ ,  $D_\lambda$ ,  $D_\theta$  e Resolução Instrumental para o par PC/Ag nos modos WIM e AIM.

Ag - PC				
Substância	WIM		AIM	
↓	$\lambda_R$ (nm)	$\Delta n_3$ (RIU)	$\theta_R$ (°)	$\Delta n_3$ (RIU)
$H_2O$	505,4	-	68,19	-
Etanol 25%	528,2	$1,277 \times 10^{-2}$	68,46	$3,002 \times 10^{-3}$
Etanol 12,5%	510,5	$3,320 \times 10^{-3}$	68,32	$1,397 \times 10^{-3}$
BSA	508,1	$1,781 \times 10^{-3}$	68,26	$7,278 \times 10^{-4}$
Desempenho				
Sensibilidade	$S_\lambda = 1.612,53 \text{ nm/RIU}$		$S_\theta = 93,06 \text{ °/RIU}$	
Resolução Instrumental	WIM: $\Delta \lambda_R = 0,0748 \text{ nm}$ com $\Delta n = 3,4656 \times 10^{-5} \text{ RIU}$		AIM: $\Delta \theta_R = 0,0037^\circ$ com $\Delta n = 4,1293 \times 10^{-5} \text{ RIU}$	
Detectividade	$D_\lambda = 4,200 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$		$D_\theta = 2,515 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$	

### Sensorgramas para filmes de ouro

A resposta do sensor SPR para filmes de ouro, encontram-se nas Figuras 5.10, 5.11, 5.12 e 5.13. Os valores experimentais de  $\Delta n_3$ ,  $\theta_R$  (AIM) e  $\lambda_R$  (WIM) para cada solução, usando o substrato BK7, estão apresentados nos sensorgramas da Figura 5.10. O ciclo experimental para ambos os modos seguiu a sequência:

AIM e WIM:  $H_2O \rightarrow Hypo. \rightarrow H_2O \rightarrow PBS \rightarrow H_2O \rightarrow BSA \rightarrow H_2O \rightarrow Hypo. \rightarrow H_2O$ .

A transição  $H_2O \rightarrow Hypo.$  ocasionou um valor de  $\Delta\lambda_R$  igual a 20,4 nm, acarretando uma variação de índice de refração de  $\Delta n_3 = 6,047 \times 10^{-3}$  RIU. No modo AIM, observou-se  $\Delta\theta_R = 0,78^\circ$  com  $\Delta n_3 = 6,416 \times 10^{-3}$  RIU. Um resumo dos resultados experimentais encontram-se na Tabela 5.5.

A formação da monocamada irreversível com a injeção da proteína BSA e posterior lavagem, é bastante perceptível em filmes de ouro. A variação de  $n_3$  para a *monolayer* de BSA foi maior para o sensor operando no modo WIM. Esse comportamento pode ter sido ocasionado pela deterioração da camada metálica, uma vez que os primeiros experimentos foram realizados no modo espectral e só então no modo AIM.

Os valores de sensibilidade óptica alcançáveis foram de  $S_\lambda = 3.293,49$  nm/RIU, no modo WIM e  $S_\theta = 119,69$  °/RIU, no modo AIM. O desempenho no modo espectral é moderadamente inferior se comparado aos valores teóricos (5.323,33 nm/RIU) representando 61,86%. Já o modo angular apresentou desempenho de 92,66% em comparação ao desempenho previsto (129,17 °/RIU). A detectividade mostra que o sensor composto pelo par BK7/Au, possui melhor desempenho operando no modo AIM do que no modo WIM nas condições investigadas, mesmo o desempenho para ligações irreversíveis(BSA) tendo sido superior no modo espectral.

Os resultados para filmes de ouro depositados nos substratos TOPAS, PMMA e PC estão sumarizados nas Tabelas 5.6, 5.7 e 5.8. Assim como nos resultados com BK7, o TOPAS também apresenta desempenho superior no modo AIM. Filmes de ouro depositado no PMMA apresentou os melhores resultados no modo WIM. Os resultados confirmam a boa adesão de BSA em superfícies de ouro. A multicamada PMMA/Ouro apresentou praticamente o mesmo desempenho para ambos os modos de operação.

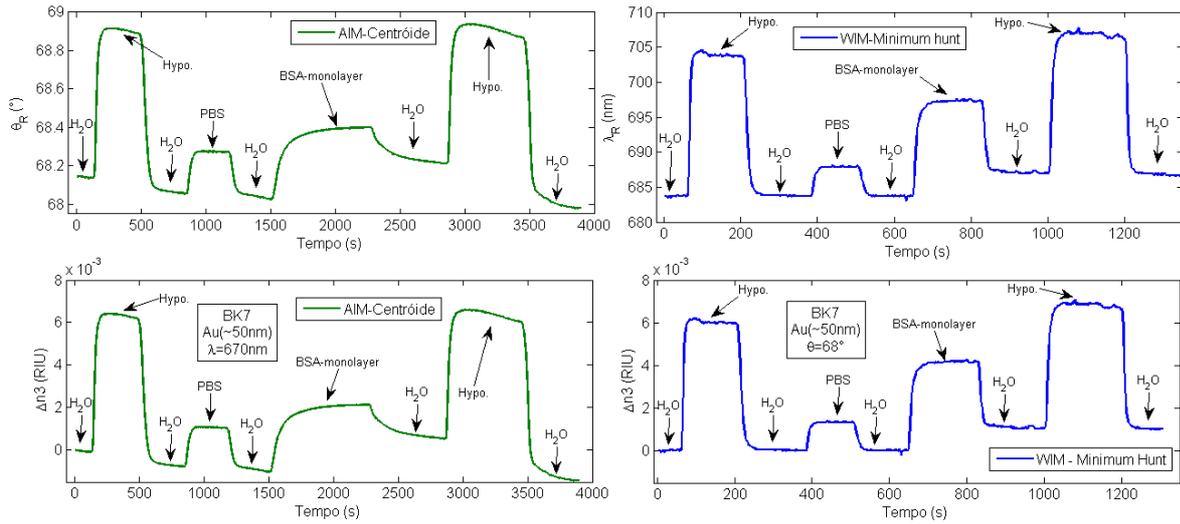


Figura 5.10: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **ouro** depositado no substratos **BK7**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois  $Hypo.$ , retorno para  $H_2O$ ; em seguida  $PBS$  e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com  $Hypo.$  e retorno para  $H_2O$ .

Tabela 5.5: Valores de  $\lambda_R$ ,  $\theta_R$ ,  $\Delta n_3$ ,  $S_\lambda$ ,  $S_\theta$ ,  $D_\lambda$ ,  $D_\theta$  e Resolução Instrumental para o par BK7/Au nos modos WIM e AIM.

Au - BK7				
Substância	WIM		AIM	
↓	$\lambda_R$ (nm)	$\Delta n_3$ (RIU)	$\theta_R$ (°)	$\Delta n_3$ (RIU)
$H_2O$	683,6	-	68,14	-
$Hypo.$	704	$6,047 \times 10^{-3}$	68,92	$6,416 \times 10^{-3}$
$PBS$	687,4	$1,337 \times 10^{-3}$	68,35	$1,767 \times 10^{-3}$
$BSA$	697,3	$4,157 \times 10^{-3}$	68,5	$3,034 \times 10^{-3}$
Desempenho				
Sensibilidade	$S_\lambda = 3.170,47 \text{ nm/RIU}$		$S_\theta = 119,69 \text{ °/RIU}$	
Resolução Instrumental	WIM: $\Delta \lambda_R = 0,0717 \text{ nm}$ com $\Delta n = 2,2290 \times 10^{-5} \text{ RIU}$		AIM: $\Delta \theta_R = 0,0018^\circ$ com $\Delta n = 1,5266 \times 10^{-5} \text{ RIU}$	
Detectividade	$D_\lambda = 4,4193 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$		$D_\theta = 6,6495 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$	

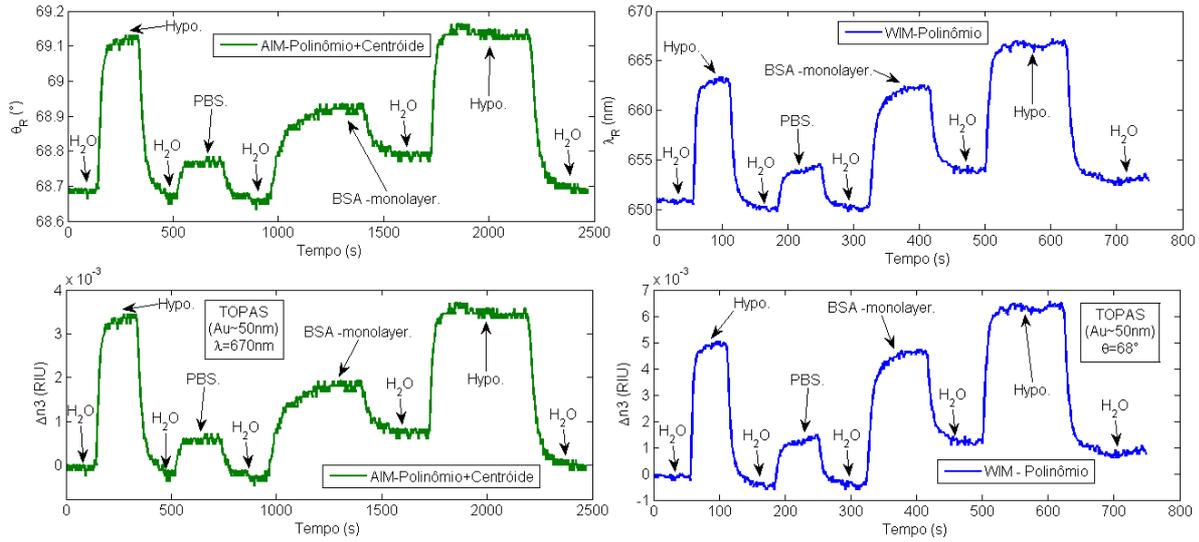


Figura 5.11: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **ouro** depositado no substrato **TOPAS**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Hypo.*, retorno para  $H_2O$ ; em seguida *PBS* e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Hypo.* e retorno para  $H_2O$ .

Tabela 5.6: Valores de  $\lambda_R$ ,  $\theta_R$ ,  $\Delta n_3$ ,  $S_\lambda$ ,  $S_\theta$ ,  $D_\lambda$ ,  $D_\theta$  e Resolução Instrumental para o par TOPAS/Au nos modos WIM e AIM.

Au - TOPAS				
Substância	WIM		AIM	
↓	$\lambda_R$ (nm)	$\Delta n_3$ (RIU)	$\theta_R$ (°)	$\Delta n_3$ (RIU)
$H_2O$	651,1	-	68,69	-
<i>Hypo.</i>	663,4	$5,662 \times 10^{-3}$	69,12	$3,342 \times 10^{-3}$
<i>PBS</i>	654	$1,750 \times 10^{-3}$	68,77	$5,998 \times 10^{-4}$
BSA	662,2	$5,100 \times 10^{-3}$	68,94	$1,915 \times 10^{-3}$
Desempenho				
Sensibilidade	$S_\lambda = 2.002,00 \text{ nm/RIU}$		$S_\theta = 130,86 \text{ °/RIU}$	
Resolução Instrumental	WIM: $\Delta \lambda_R = 0,2872 \text{ nm}$ com $\Delta n = 1,2148 \times 10^{-4} \text{ RIU}$		AIM: $\Delta \theta_R = 0,0085^\circ$ com $\Delta n = 6,8336 \times 10^{-5} \text{ RIU}$	
Detectividade	$D_\lambda = 6,9697 \times 10^3 \text{ RIU}^{-1}$		$D_\theta = 1,5396 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$	

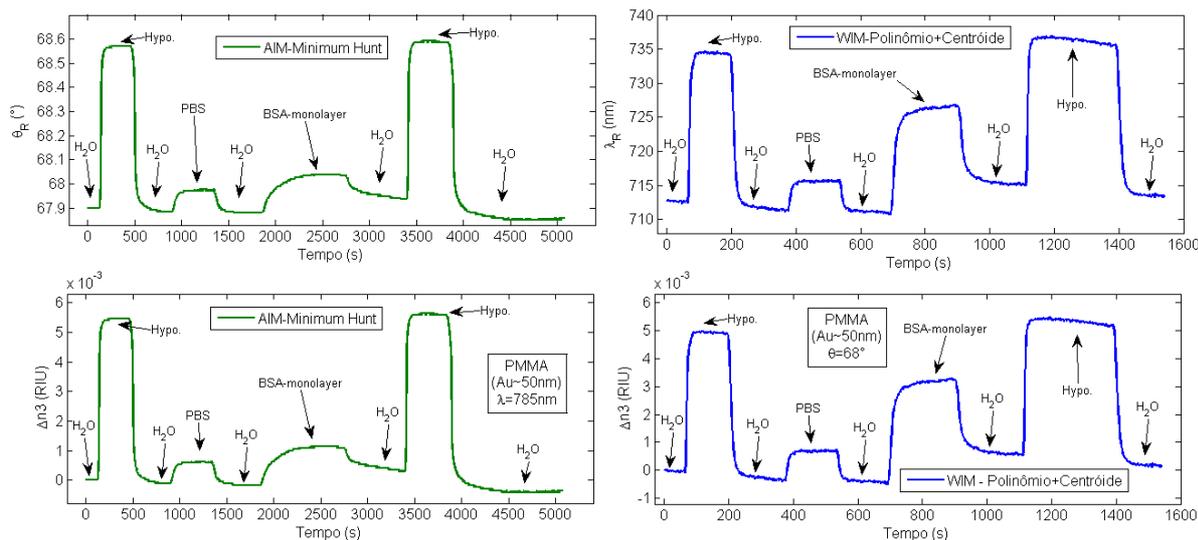


Figura 5.12: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **ouro** depositado no substrato **PMMA**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Hypo.*, retorno para  $H_2O$ ; em seguida *PBS* e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Hypo.* e retorno para  $H_2O$ .

Tabela 5.7: Valores de  $\lambda_R$ ,  $\theta_R$ ,  $\Delta n_3$ ,  $S_\lambda$ ,  $S_\theta$ ,  $D_\lambda$ ,  $D_\theta$  e Resolução Instrumental para o par PMMA/Au nos modos WIM e AIM.

Au - PMMA				
Substância	WIM		AIM	
↓	$\lambda_R$ (nm)	$\Delta n_3$ (RIU)	$\theta_R$ (°)	$\Delta n_3$ (RIU)
$H_2O$	712,8	-	68,68	-
<i>Hypo.</i>	734,3	$4,921 \times 10^{-3}$	69,35	$5,468 \times 10^{-3}$
<i>PBS</i>	717,6	$9,721 \times 10^{-4}$	68,76	$6,348 \times 10^{-4}$
BSA	728,6	$3,229 \times 10^{-3}$	68,82	$1,153 \times 10^{-3}$
Desempenho				
Sensibilidade	$S_\lambda = 4.740,09 \text{ nm/RIU}$		$S_\theta = 123,33 \text{ °/RIU}$	
Resolução Instrumental	WIM: $\Delta \lambda_R = 0,1156 \text{ nm}$ com $\Delta n = 2,7666 \times 10^{-5} \text{ RIU}$		AIM: $\Delta \theta_R = 0,0034^\circ$ com $\Delta n = 2,7928 \times 10^{-5} \text{ RIU}$	
Detectividade	$D_\lambda = 4,0984 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$		$D_\theta = 3,6272 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$	

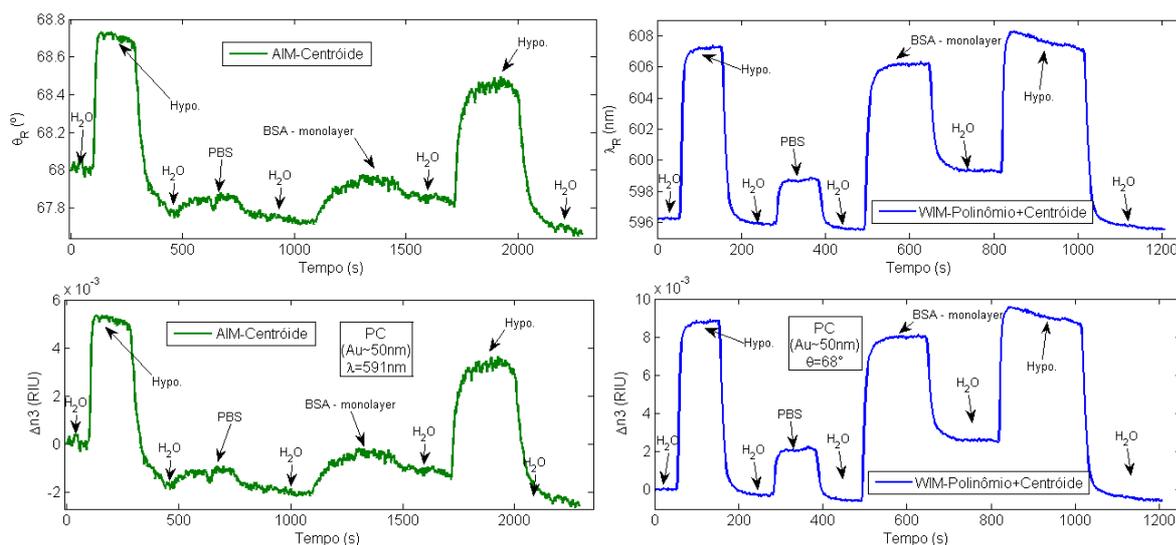


Figura 5.13: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **ouro** depositado no substrato **PC**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Hypo.*, retorno para  $H_2O$ ; em seguida *PBS* e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Hypo* e retorno para  $H_2O$ .

Tabela 5.8: Valores de  $\lambda_R$ ,  $\theta_R$ ,  $\Delta n_3$ ,  $S_\lambda$ ,  $S_\theta$ ,  $D_\lambda$ ,  $D_\theta$  e Resolução Instrumental para o par PC/Au nos modos WIM e AIM.

Au - PC				
Substância	WIM		AIM	
↓	$\lambda_R$ (nm)	$\Delta n_3$ (RIU)	$\theta_R$ (°)	$\Delta n_3$ (RIU)
$H_2O$	596,1	-	67,99	-
<i>Hypo.</i>	607,3	$8,840 \times 10^{-3}$	68,72	$5,311 \times 10^{-3}$
<i>PBS</i>	598,9	$2,222 \times 10^{-3}$	68,06	$5,500 \times 10^{-4}$
BSA	606,2	$8,062 \times 10^{-3}$	68,17	$1,3692 \times 10^{-3}$
Desempenho				
Sensibilidade	$S_\lambda = 1.237,05 \text{ nm/RIU}$		$S_\theta = 132,06 \text{ °/RIU}$	
Resolução Instrumental	WIM: $\Delta \lambda_R = 0,06931 \text{ nm}$ com $\Delta n = 5,7557 \times 10^{-5} \text{ RIU}$		AIM: $\Delta \theta_R = 0,0197^\circ$ com $\Delta n = 1,4743 \times 10^{-4} \text{ RIU}$	
Detectividade	$D_\lambda = 1,7897 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$		$D_\theta = 6,7037 \times 10^3 \text{ RIU}^{-1}$	

### Sensorgramas para filmes de cobre

As Figuras 5.14, 5.15, 5.16 e 5.17 apresentam os sensorgramas do sensor SPR para filmes de cobre. Os filmes de cobre mostraram-se muito suscetíveis à oxidação, impossibilitando a obtenção do sensorgrama. Desse modo, uma fina camada de ouro ( $\sim 5$  nm) foi depositada para evitar a formação de uma camada de oxidação. Tal espessura não altera a resposta dos filmes de cobre e a comparação com os valores teóricos continua válida.

Para o PPBIO de BK7, as variações nos valores de  $\lambda_R$ ,  $\theta_R$  e  $\Delta n_3$  encontram-se na Figura 5.14, com um resumo dos resultados na Tabela 5.9. O ciclo experimental seguiu as sequências, AIM e WIM:  $H_2O \rightarrow Etanol25\% \rightarrow H_2O \rightarrow Etanol12,5\% \rightarrow H_2O \rightarrow BSA \rightarrow H_2O \rightarrow Etanol25\% \rightarrow H_2O$

As transições  $H_2O \rightarrow Etanol25\%$  e  $H_2O \rightarrow Etanol12,5\%$  ocasionaram valores de  $\Delta\lambda_R$  igual a 34,6 nm e 13,9 nm, acarretando uma variação de índice de refração de  $\Delta n_3 = 8,014 \times 10^{-3}$  RIU e  $\Delta n_3 = 3,498 \times 10^{-3}$  RIU, respectivamente. No modo AIM, para essas transições observou-se  $\Delta\theta_R = 0,79^\circ$  e  $\Delta\theta_R = 0,37^\circ$  com  $\Delta n_3 = 6,064 \times 10^{-3}$  RIU e  $\Delta n_3 = 2,685 \times 10^{-3}$  RIU, respectivamente.

Os filmes de cobre não apresentam formação da monocamada irreversível com a injeção da proteína BSA e posterior lavagem. A variação de  $n_3$  para a injeção da solução de BSA foi de  $\Delta n_3 = 2,674 \times 10^{-5}$  RIU no modo WIM e  $\Delta n_3 = 7,106 \times 10^{-4}$  RIU no modo AIM.

O valor de sensibilidade óptica no modo espectral  $S_\lambda$  foi de 4.056,88 nm/RIU, o que representa 72,03% do valor teórico médio (5.631,67 nm/RIU). No modo angular, o valor  $S_\theta = 130,69^\circ$ /RIU é maior do que o  $S_\theta$  teórico (127,83  $^\circ$ /RIU) pelo fato do comprimento de onda do diodo laser utilizado não ser o mesmo do OP teórico. Os valores de detectividade apontam para um melhor desempenho do sensor operando no modo WIM.

Um resumo dos resultados para filmes de cobre depositados nos substratos TOPAS, PMMA e PC estão sumarizados nas Tabelas 5.10, 5.11 e 5.12. TOPAS e PMMA apresentam desempenho superior no modo WIM, com o par TOPAS/Cu apresentando limite de detecção de  $\Delta n_3$  na ordem de  $10^{-6}$  RIU. Filmes de cobre depositados no polímero PC apresentaram formação de camada de oxidação, caracterizada pela linha base crescente no sensorgrama do modo WIM. A excitação dos SP no modo AIM para o par PC/Cu foi realizada utilizando um LED como fonte de luz ao invés de um diodo laser.

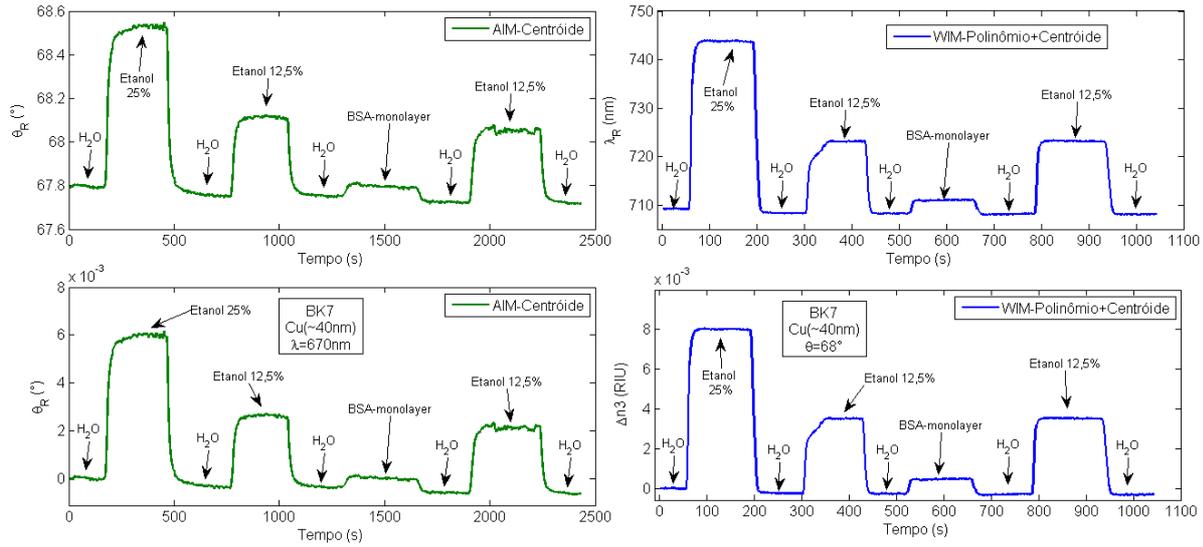


Figura 5.14: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de  **cobre**  depositado no substratos  **BK7** . Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois  *Etanol*  de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida  *Etanol*  de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com  *Etanol*  e retorno para  $H_2O$ .

Tabela 5.9: Valores de  $\lambda_R$ ,  $\theta_R$ ,  $\Delta n_3$ ,  $S_\lambda$ ,  $S_\theta$ ,  $D_\lambda$ ,  $D_\theta$  e Resolução Instrumental para o par BK7/Cu nos modos WIM e AIM.

Cu - BK7				
Substância	WIM		AIM	
↓	$\lambda_R$ (nm)	$\Delta n_3$ (RIU)	$\theta_R$ (°)	$\Delta n_3$ (RIU)
$H_2O$	709,2	-	67,75	-
Etanol 25%	743,8	$8,014 \times 10^{-3}$	68,54	$6,064 \times 10^{-3}$
Etanol 12,5%	723,1	$3,498 \times 10^{-3}$	68,12	$2,685 \times 10^{-3}$
BSA	710,9	$4,382 \times 10^{-4}$	67,8	$3,244 \times 10^{-4}$
Desempenho				
Sensibilidade	$S_\lambda = 4.056,88 \text{ nm/RIU}$		$S_\theta = 116,33 \text{ °/RIU}$	
Resolução Instrumental	WIM: $\Delta \lambda_R = 0,06840 \text{ nm}$ com $\Delta n = 1,6303 \times 10^{-5} \text{ RIU}$		AIM: $\Delta \theta_R = 0,0038^\circ$ com $\Delta n = 3,1080 \times 10^{-5} \text{ RIU}$	
Detectividade	$D_\lambda = 5,9311 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$		$D_\theta = 3,0614 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$	

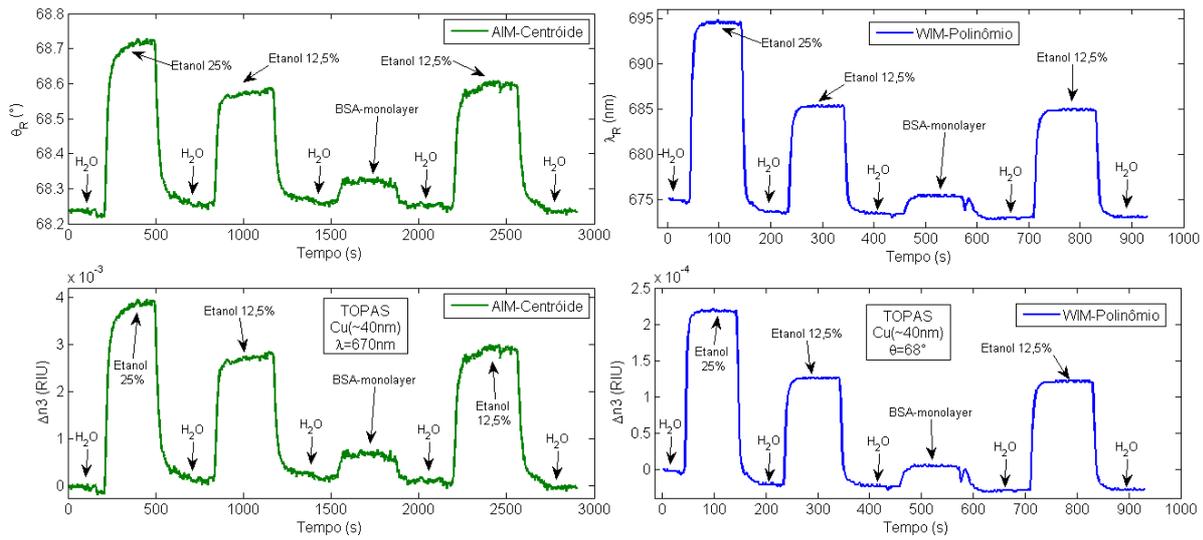


Figura 5.15: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de  **cobre**  depositado no substrato  **TOPAS** . Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois  *Etanol*  de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida  *Etanol*  de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com  *Etanol*  e retorno para  $H_2O$ .

Tabela 5.10: Valores de  $\lambda_R$ ,  $\theta_R$ ,  $\Delta n_3$ ,  $S_\lambda$ ,  $S_\theta$ ,  $D_\lambda$ ,  $D_\theta$  e Resolução Instrumental para o par TOPAS/Cu nos modos WIM e AIM.

Cu - TOPAS				
Substância	WIM		AIM	
↓	$\lambda_R$ (nm)	$\Delta n_3$ (RIU)	$\theta_R$ (°)	$\Delta n_3$ (RIU)
$H_2O$	675,0	-	68,23	-
Etanol 25%	694,6	$2,191 \times 10^{-4}$	68,71	$3,840 \times 10^{-3}$
Etanol 12,5%	685,4	$1,262 \times 10^{-4}$	68,57	$2,716 \times 10^{-3}$
BSA	677,0	$2,674 \times 10^{-5}$	68,33	$7,106 \times 10^{-4}$
Desempenho				
Sensibilidade	$S_\lambda = 3.265,56 \text{ nm/RIU}$		$S_\theta = 125,09 \text{ °/RIU}$	
Resolução Instrumental	WIM: $\Delta \lambda_R = 0,09730 \text{ nm}$ com $\Delta n = 1,0840 \times 10^{-6} \text{ RIU}$		AIM: $\Delta \theta_R = 0,0042^\circ$ com $\Delta n = 3,4144 \times 10^{-5} \text{ RIU}$	
Detectividade	$D_\lambda = 3,3562 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$		$D_\theta = 2,9784 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$	

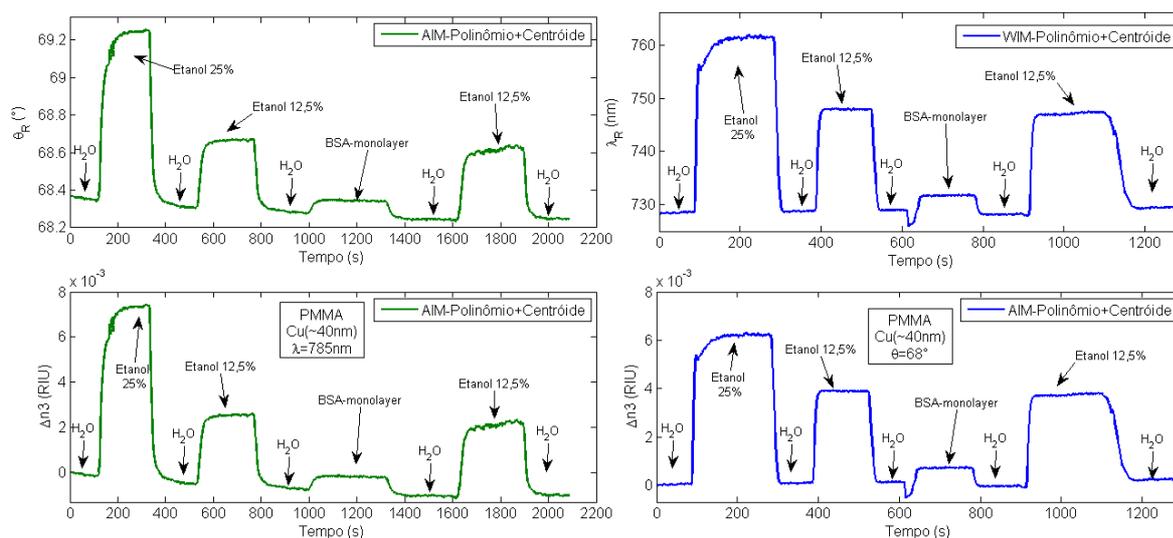


Figura 5.16: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **cobre** depositado no substrato **PMMA**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Etanol* de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida *Etanol* de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Etanol* e retorno para  $H_2O$ .

Tabela 5.11: Valores de  $\lambda_R$ ,  $\theta_R$ ,  $\Delta n_3$ ,  $S_\lambda$ ,  $S_\theta$ ,  $D_\lambda$ ,  $D_\theta$  e Resolução Instrumental para o par PMMA/Cu nos modos WIM e AIM.

Cu - PMMA				
Substância	WIM		AIM	
↓	$\lambda_R$ (nm)	$\Delta n_3$ (RIU)	$\theta_R$ (°)	$\Delta n_3$ (RIU)
$H_2O$	728,5	-	68,35	-
Etanol 25%	761,6	$6,242 \times 10^{-3}$	69,25	$7,377 \times 10^{-3}$
Etanol 12,5%	747,9	$3,892 \times 10^{-3}$	68,72	$3,091 \times 10^{-3}$
BSA	731,7	$7,066 \times 10^{-4}$	68,42	$9,866 \times 10^{-4}$
Desempenho				
Sensibilidade	$S_\lambda = 4.938,70 \text{ nm/RIU}$		$S_\theta = 104,21 \text{ °/RIU}$	
Resolução Instrumental	WIM: $\Delta \lambda_R = 0,09231 \text{ nm}$ com $\Delta n = 1,6885 \times 10^{-5} \text{ RIU}$		AIM: $\Delta \theta_R = 0,0039^\circ$ com $\Delta n = 3,3065 \times 10^{-5} \text{ RIU}$	
Detectividade	$D_\lambda = 5,3501 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$		$D_\theta = 2,6477 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$	

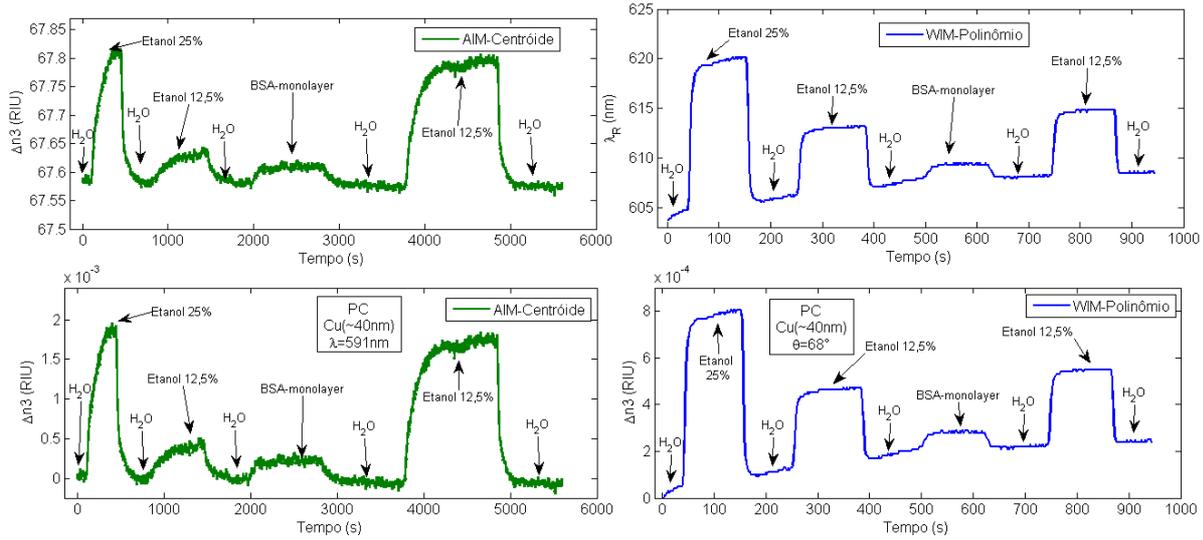


Figura 5.17: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **cobre** depositado no substrato PC. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Etanol* de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida *Etanol* de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Etanol* e retorno para  $H_2O$ .

Tabela 5.12: Valores de  $\lambda_R$ ,  $\theta_R$ ,  $\Delta n_3$ ,  $S_\lambda$ ,  $S_\theta$ ,  $D_\lambda$ ,  $D_\theta$  e Resolução Instrumental para o par PC/Cu nos modos WIM e AIM.

Cu - PC				
Substância	WIM		AIM	
↓	$\lambda_R$ (nm)	$\Delta n_3$ (RIU)	$\theta_R$ (°)	$\Delta n_3$ (RIU)
$H_2O$	604,7	-	67,59	-
Etanol 25%	619,9	$7,943 \times 10^{-4}$	67,81	$1,883 \times 10^{-3}$
Etanol 12,5%	613,0	$4,626 \times 10^{-4}$	67,81	$3,665 \times 10^{-4}$
BSA	609,3	$2,779 \times 10^{-4}$	67,61	$2,383 \times 10^{-4}$
Desempenho				
Sensibilidade	$S_\lambda = 1.787,70 \text{ nm/RIU}$		$S_\theta = 103,30 \text{ °/RIU}$	
Resolução Instrumental	WIM: $\Delta \lambda_R = 0,09686 \text{ nm}$ com $\Delta n = 4,7946 \times 10^{-6} \text{ RIU}$		AIM: $\Delta \theta_R = 0,0042^\circ$ com $\Delta n = 3,4675 \times 10^{-5} \text{ RIU}$	
Detectividade	$D_\lambda = 1,8457 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$		$D_\theta = 2,4595 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$	

### Sensorgramas para filmes de alumínio

Por último, os sensorgramas com filmes de alumínio foram obtidos e estão apresentados nas Figuras 5.18, 5.19, 5.20 e 5.21 e sumarizados nas tabelas 5.13, 5.14, 5.15 e 5.16. O ciclo experimental seguiu a sequência:

WIM e AIM:  $H_2O \rightarrow Etanol25\% \rightarrow H_2O \rightarrow Etanol12,5\% \rightarrow H_2O \rightarrow BSA \rightarrow H_2O \rightarrow Etanol12,5\% \rightarrow H_2O$

Para o substrato de BK7, a mudança  $H_2O \rightarrow Etanol25\%$  significa uma variação de  $\Delta n_3 = 1,036 \times 10^{-3}$  RIU, o que acarreta uma variação no comprimento de onda de  $\Delta \lambda_R = 20,9$  nm. Para uma variação no índice de refração de  $\Delta n_3 = 1,0 \times 10^{-3}$  RIU, a AF indica uma variação de 39,6 nm em  $\lambda_R$ . No modo AIM, a mudança  $H_2O \rightarrow Etanol25\%$  implica em  $\Delta n_3 = 1,772 \times 10^{-3}$  RIU, com  $\Delta \theta_R = 0,2^\circ$ . Para uma variação de  $1,5 \times 10^{-3}$  RIU no índice de refração, a AF no modo AIM fornece uma variação de  $1,58^\circ$  no valor de  $\theta_R$ .

A injeção de proteína na superfície alumínio não acarreta em formação de monocamada irreversível. Em particular, a interação entre BSA e o filme de Al apresentou um comportamento diferente dos demais metais no qual observa-se uma diminuição no valor da linha base (célula molhada) após a remoção da solução de BSA com  $H_2O$ .

A formação da camada de oxidação não caracterizou empecilhos para obtenção do sensorgrama. Dado o comportamento não linear de  $S_\lambda$ , o valor de sensibilidade óptica alcançável para pequenas variações de  $n_3$  ( $3 < 10^{-4}$  RIU) foi de 1.638,83 nm/RIU.

No modo AIM, o valor de  $S_\theta$  foi de  $118,60^\circ$ /RIU, aproximadamente 79% do valor teórico ( $148,83^\circ$ /RIU). A detectividade mostra que o sensor composto pelo par BK7/Al, possui melhor desempenho operando no modo WIM nas condições investigadas.

Os resultados para filmes de alumínio depositados nos substratos PMMA também apresentaram uma alteração no valor da linha base após a interação com BSA. Em substrato de TOPAS tal comportamento não foi observado e nota-se uma pequena adesão de proteína após a lavagem. As diferenças observadas no comportamento da adesão de BSA podem ser originadas devido a uma maior/menor intensidade na formação e  $Al_2O_3$ . O par PC/Al não apresentou resultados satisfatórios, como previsto pela AF, revelando baixo valor de resolução instrumental, impossibilitando a distinção das amostras a partir de  $\Delta \lambda_R$ . Assim como nos resultados com BK7, o modo WIM apresentou desempenho superior ao modo

AIM para os polímeros TOPAS e PMMA.

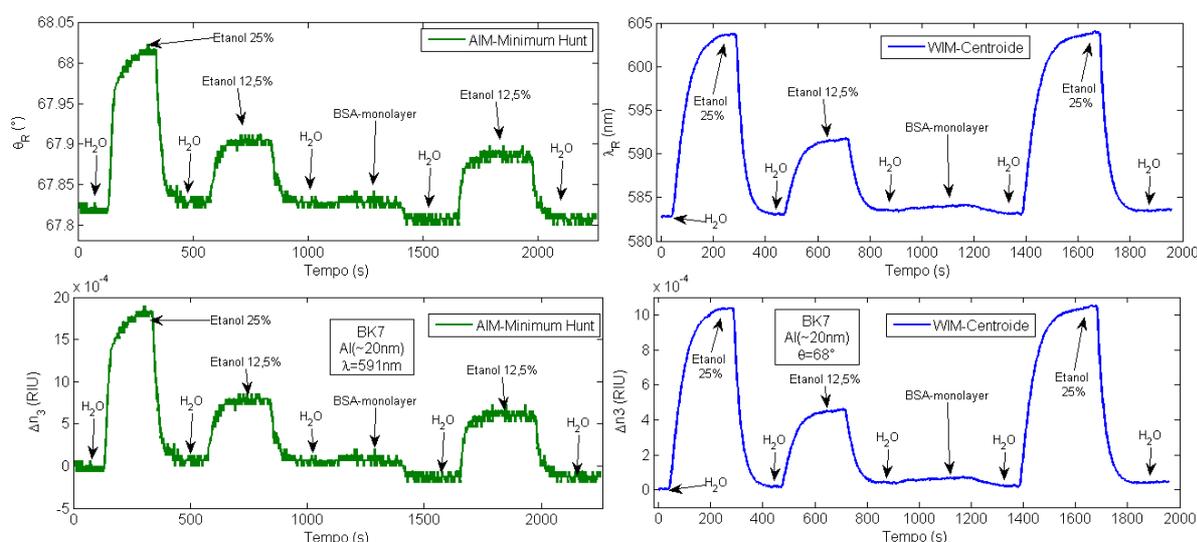


Figura 5.18: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **alumínio** depositado no substrato **BK7**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Etanol* de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida *Etanol* de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Etanol* e retorno para  $H_2O$ .

Tabela 5.13: Valores de  $\lambda_R$ ,  $\theta_R$ ,  $\Delta n_3$ ,  $S_\lambda$ ,  $S_\theta$ ,  $D_\lambda$ ,  $D_\theta$  e Resolução Instrumental para o par BK7/Al nos modos WIM e AIM.

Al - BK7				
Substância	WIM		AIM	
↓	$\lambda_R$ (nm)	$\Delta n_3$ (RIU)	$\theta_R$ (°)	$\Delta n_3$ (RIU)
$H_2O$	582,8	-	67,81	-
Etanol 25%	603,7	$1,036 \times 10^{-3}$	68,01	$1,772 \times 10^{-3}$
Etanol 12,5%	591,7	$4,571 \times 10^{-4}$	67,9	$7,239 \times 10^{-4}$
BSA	584,1	$7,030 \times 10^{-5}$	67,83	$6,591 \times 10^{-5}$
Desempenho				
Sensibilidade	$S_\lambda = 1.638,83 \text{ nm/RIU}$		$S_\theta = 118,60 \text{ °/RIU}$	
Resolução Instrumental	WIM: $\Delta \lambda_R = 0,0737 \text{ nm}$ com $\Delta n = 6,4609 \times 10^{-6} \text{ RIU}$		AIM: $\Delta \theta_R = 0,0058 \text{ °}$ com $\Delta n = 5,1354 \times 10^{-5} \text{ RIU}$	
Detectividade	$D_\lambda = 2,8601 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$		$D_\theta = 2,0448 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$	

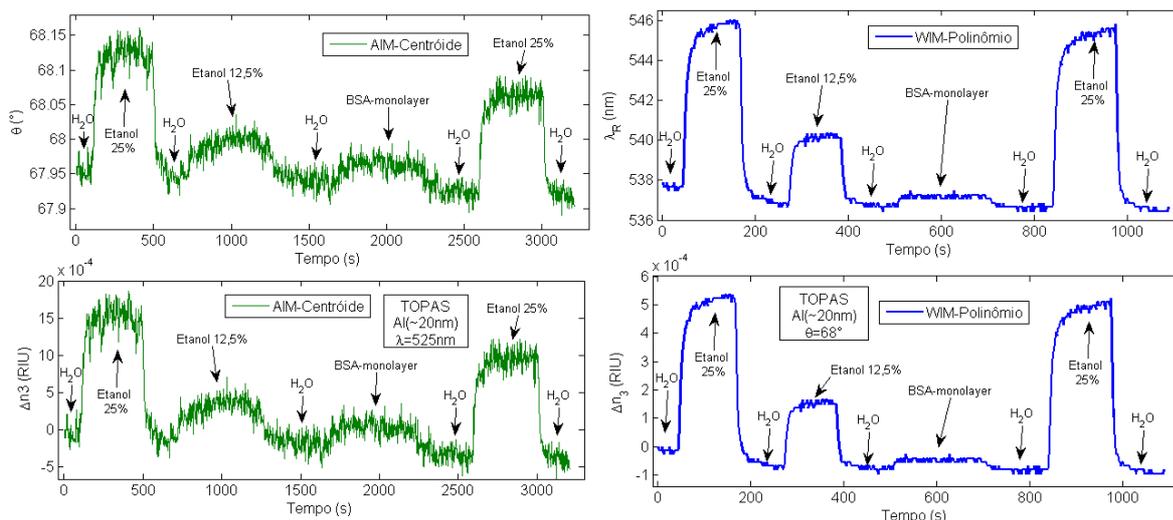


Figura 5.19: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **alumínio** depositado no substrato **TOPAS**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Etanol* de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida *Etanol* de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Etanol* e retorno para  $H_2O$ .

Tabela 5.14: Valores de  $\lambda_R$ ,  $\theta_R$ ,  $\Delta n_3$ ,  $S_\lambda$ ,  $S_\theta$ ,  $D_\lambda$ ,  $D_\theta$  e Resolução Instrumental para o par TOPAS/Al nos modos WIM e AIM.

Al - TOPAS				
Substância	WIM		AIM	
↓	$\lambda_R$ (nm)	$\Delta n_3$ (RIU)	$\theta_R$ (°)	$\Delta n_3$ (RIU)
$H_2O$	537,7	-	67,95	-
Etanol 25%	545,8	$5,217 \times 10^{-4}$	68,13	$1,596 \times 10^{-3}$
Etanol 12,5%	541,1	$2,231 \times 10^{-4}$	68,01	$5,018 \times 10^{-4}$
BSA	538,1	$4,112 \times 10^{-5}$	67,96	$2,195 \times 10^{-5}$
Desempenho				
Sensibilidade	$S_\lambda = 444,85 \text{ nm/RIU}$		$S_\theta = 11,54 \text{ °/RIU}$	
Resolução Instrumental	WIM: $\Delta \lambda_R = 0,1462 \text{ nm}$ com $\Delta n = 2,8517 \times 10^{-6} \text{ RIU}$		AIM: $\Delta \theta_R = 0,027^\circ$ com $\Delta n = 2,7391 \times 10^{-4} \text{ RIU}$	
Detectividade	$D_\lambda = 3,043 \times 10^3 \text{ RIU}^{-1}$		$D_\theta = 4,2307 \times 10^2 \text{ RIU}^{-1}$	

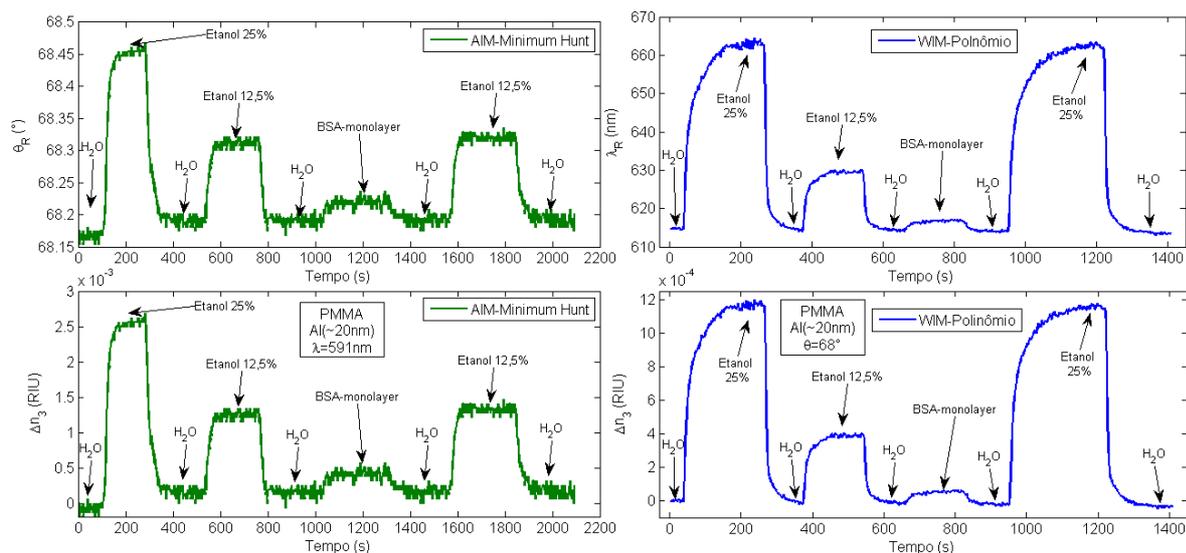


Figura 5.20: Sensorgramas obtidos nos modos AIM (verde) e WIM (azul) para  $\theta_R$  (verde superior),  $\Delta n_3(\theta_R)$  (verde inferior),  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **alumínio** depositado no substrato **PMMA**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura. Experimento realizado primeiro no modo WIM, em seguida, o mesmo prisma é utilizado no modo AIM. Ciclo experimental iniciando com  $H_2O$ , depois *Etanol* de alta-concentração, retorno para  $H_2O$ , em seguida *Etanol* de baixa-concentração e retorno para  $H_2O$ ; por fim solução de BSA, remoção de excesso com  $H_2O$ , limpeza com *Etanol* e retorno para  $H_2O$ .

Tabela 5.15: Valores de  $\lambda_R$ ,  $\theta_R$ ,  $\Delta n_3$ ,  $S_\lambda$ ,  $S_\theta$ ,  $D_\lambda$ ,  $D_\theta$  e Resolução Instrumental para o par PMMA/Al nos modos WIM e AIM.

Al - PMMA				
Substância	WIM		AIM	
↓	$\lambda_R$ (nm)	$\Delta n_3$ (RIU)	$\theta_R$ (°)	$\Delta n_3$ (RIU)
$H_2O$	614,8	-	68,17	-
Etanol 25%	663	$1,167 \times 10^{-3}$	68,45	$2,555 \times 10^{-3}$
Etanol 12,5%	629,4	$3,855 \times 10^{-4}$	68,31	$1,282 \times 10^{-3}$
BSA	617	$5,895 \times 10^{-5}$	68,22	$3,853 \times 10^{-4}$
Desempenho				
Sensibilidade	$S_\lambda = 3.087,00 \text{ nm/RIU}$		$S_\theta = 109,40 \text{ °/RIU}$	
Resolução Instrumental	WIM: $\Delta \lambda_R = 0,4570 \text{ nm}$ com $\Delta n = 1,8568 \times 10^{-5} \text{ RIU}$		AIM: $\Delta \theta_R = 0,0056^\circ$ com $\Delta n = 5,1551 \times 10^{-5} \text{ RIU}$	
Detectividade	$D_\lambda = 1,0342 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$		$D_\theta = 1,9369 \times 10^4 \text{ RIU}^{-1}$	

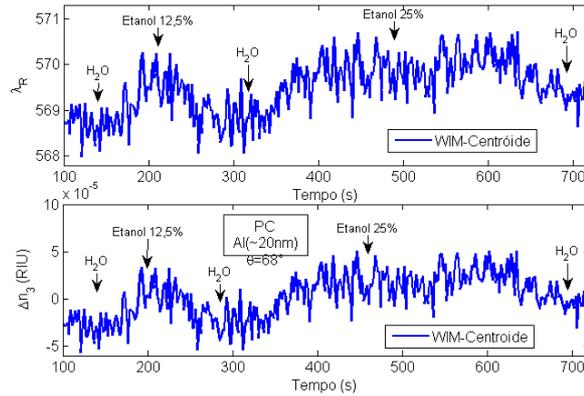


Figura 5.21: Sensorgrama no modo WIM (azul) para  $\lambda_R$  (azul superior) e  $\Delta n_3(\lambda_R)$  (azul inferior) para filme de **alumínio** depositado no substrato **PC**. Algoritmos de detecção do valor mínimo, multicamada, comprimento de onda, ângulo e substâncias indicados na figura.

Tabela 5.16: Valores de  $\lambda_R$ ,  $\Delta n_3$ ,  $S_\lambda$ ,  $D_\lambda$  e Resolução Instrumental para o par PC/Al no modo WIM.

Al - PC				
Substância	WIM		AIM	
↓	$\lambda_R$ (nm)	$\Delta n_3$ (RIU)	$\theta_R$ (°)	$\Delta n_3$ (RIU)
H <sub>2</sub> O	568,5	-		-
Etanol 6,5-25%	570	$2,341 \times 10^{-4}$		
Etanol 3,1-12,5%	569,6	$5,458 \times 10^{-6}$		
BSA				
Desempenho				
Sensibilidade	$S_\lambda = - \text{nm}/\text{RIU}$		$S_\theta = - \text{°}/\text{RIU}$	
Resolução Instrumental	WIM: $\Delta \lambda_R = 8,6257 \text{ nm}$ com $\Delta n = - \text{RIU}$		AIM: $\Delta \theta_R = - \text{°}$ com $\Delta n = - \text{RIU}$	
Detectividade	$D_\lambda = - \text{RIU}^{-1}$		$D_\theta = - \text{RIU}^{-1}$	

## 5.4 Resumo

Neste capítulo apresentou-se os resultados experimentais obtidos com os diferentes pares substrato/metal. Ao todo, 16 combinações de materiais foram investigadas nos modos AIM e WIM, totalizando 32 experimentos. Aspectos sobre as etapas de processamento dos dados foram apresentados. Descreveu-se o protocolo experimental utilizado. Em seguida, as curvas SPRs para a água deionizada e desgaseificada, os sensorgramas e as tabelas de sumarização foram apresentadas. Os resultados para a sensibilidade e detectividade dos diferentes arranjos multicamadas encontram-se sumarizados no **Apêndice A**.

# Capítulo 6

## Conclusão e trabalhos futuros

A tese apresenta um estudo sobre os principais aspectos no desenvolvimento do sistema multicamadas de um sensor SPR e destaca os efeitos dos materiais na excitação dos plasmons de superfície. Dessa forma, é possível prever as condições necessárias para excitação dos SPs, e assim, determinar os componentes óptico-eletrônicos necessários à construção de um sensor SPR, bem como a qualidade do processamento para extração dos parâmetros de interesse.

Investigou-se arranjos multicamadas com base no prisma polimérico (PPBIO) por este propiciar a instrumentação de sensores SPR menos complexa e com menor custo. A influência da temperatura em cada etapa da metodologia do PPBIO foi discutida. Seu efeito no comportamento do prisma indica que o controle da temperatura pode melhorar a qualidade da resposta SPR, tendo em vista as conseqüentes mudanças na posição de entrada, no foco e no ângulo detectado. Ademais, variações de temperatura afetam a função dielétrica dos materiais que compõem o dispositivo alterando os seus respectivos pontos de operação.

O Ponto de Operação (OP) é um importante fator a ser considerado para nortear a construção do sensor. Primeiro porque alterando os materiais usados na excitação do fenômeno, um novo ponto de operação deve ser escolhido para se atingir a condição de ressonância. O segundo aspecto está relacionado com a geometria do prisma, para um OP pré-definido serão necessárias alterações na geométrica do prisma para manter o mesmo OP usando materiais diferentes. O novo parâmetro  $\mu$  é apresentado para ajustes no OP e para calibração entre os modos AIM e WIM.

Com o estudo computacional é possível identificar os pares substrato/metal que possuem relativa significância e contribuição ao sensoriamento baseado na SPR. Existem diferenças consideráveis entre os diferentes modos de operação: um grande inconveniente para o WIM em comparação com o AIM é o fato de quase todos os metais apresentarem variação não-linear de  $S_\lambda$  para alterações de  $n_3$ . Como consequência, o sensor SPR terá uma resposta linear apenas em um intervalo limitado, e portanto, uma análise quantitativa e a determinação precisa de  $n_3$  torna-se uma tarefa difícil.

A tese objetiva a construção de sensores baseado na SPR tradicional, isto é, com a excitação dos SP em finos filmes-metálicos. Todavia, vale salientar que as diferentes configurações para excitação da SPR também diferem em relação a magnitude dos valores de sensibilidade óptica  $S_\lambda$ . Em uma última comparação, a Figura 6.1 apresenta o gráfico da faixa de variação  $S_\lambda$  para a LSPR, a SPR tradicional e a LRSPP em função do comprimento de propagação dos SPs. O gráfico ilustra que a LSPR possui os menores valores de sensibilidade, com faixa de  $50 \text{ nm/RIU} < S_\lambda > 200 \text{ nm/RIU}$ , com comprimento de propagação proporcional ao tamanho das partículas. A SPR tradicional exibe uma boa performance, com valores entre  $3000 \text{ nm/RIU} < S_\lambda > 5000 \text{ nm/RIU}$ , especialmente para os metais nobres. A LRSPP possui excelente sensibilidade especialmente para filmes finos de Cu, com  $S_\lambda \approx 12000 \text{ nm/RIU}$  [40].

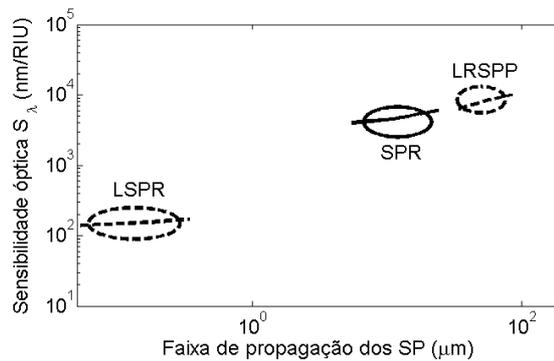


Figura 6.1: Classificação dos três modos de excitação (LSPR, SPR e LRSPP) dos plasmons de superfície em função do valor de  $S_\lambda$  e do comprimento de propagação dos SP.

Em particular, na SPR tradicional a interface entre filmes nanométricos de alumínio e água possuem propriedades ópticas bastante incomuns. Em contraste com películas finas de ouro, a dispersão simétrica dos SP pode dividir-se em duas ou mais ressonâncias coexis-

tentes, a depender do substrato dielétrico escolhido. Assim, com o uso de uma fonte de luz apropriada e um algoritmo concebido adequadamente, este fenômeno permite determinar de forma simultânea e independente o índice de refração e a espessura de uma camada imobilizada na superfície metálica, além de suprimir a sensibilidade-cruzada. A formação da camada de oxidação pode alterar o OP dos filmes de Al [88], todavia a formação de manchas ou alteração de cor não foi perceptível.

Finas camadas de ouro são indicadas para mediação de eventos biológicos em soluções aquosas por serem inertes a formação de camada de oxidação. A excitação dos SP ocorrem em comprimentos de onda no espectro visível e em ângulos de fácil instrumentação. A excitação dos SP em filmes de Au mostrou-se satisfatória em todos os substratos utilizados.

A prata fornece uma curva SPR nítida, isto é, com boa profundidade/contraste de penetração e possuindo um baixo valor de FWHM. Passado alguns dias após a deposição, notou-se a formação de manchas e alteração na cor dos filmes de Ag, caracterizando uma rápida formação de camada de oxidação. Soluções a base de hipoclorito não são indicadas para detecção com filmes de prata.

Os filmes de cobre apresentaram a maior fragilidade em relação a oxidação, com a formação imediata de camada de oxidação quando em contato com solução aquosa. Dessa forma, a aplicação do protocolo experimental para construção do sensorgrama não foi possível com uma camada pura de cobre. Para obtenção do sensorgrama uma fina camada de ouro foi depositada acima do filme de Cu para prevenir a oxidação da camada metálica.

Testes de ligações reversíveis e irreversíveis com soluções de BSA foram realizados a fim de computar experimentalmente a sensibilidade e detectividade do prisma óptico operando nos dois modos de interrogação. Em filmes de Au, as soluções de BSA apresentaram maior adesão em ambos os modos de interrogação. Não houve adesão em filmes de Cu e Al.

Nos filmes de Ag, em geral, houve baixa adesão de BSA. O primeiro contato entre BSA e a prata afeta a camada metálica interferindo na qualidade da adesão no segundo contato. Desse modo, como os primeiros experimentos foram no modo WIM, a adesão da proteína no modo AIM ficou prejudicada. No par PMMA/Ag operando no modo espectral, BSA apresentou uma forte adesão.

Foram analisados as respostas de 16 pares substrato/metal nos modos AIM e WIM, totalizando 32 possibilidades de sensores SPR. Dentre essas diversas combinações, as res-

posta com BK7 oferecem bons resultados de sensibilidade, limite de detecção e valores de profundidade/contraste da curva SPR. O uso de polímeros requer o tratamento térmico, o qual foi mais efetivo em prismas de PMMA. E como previsto no estudo computacional, o par PC/alumínio não é indicado para o desenvolvimento de sensores SPR. No **Apêndice A - Fabricação do PPBIO** encontram-se sumarizados os valores de sensibilidade e detectividades obtidos com as 32 possibilidades.

Com os resultados obtidos, o objetivo de construir e averiguar experimentalmente a qualidade da excitação dos plasmons de superfície em sensores SPR a base do PPBIO foi alcançado. Todos os aspectos envolvidos no desenvolvimento de um sensor SPR foram contemplados no trabalho, aspectos que vão da manufatura dos prismas até a programação dos softwares para extração dos parâmetros.

## 6.1 Trabalhos futuros

Os resultados da tese perspectivam a continuidade do trabalho com o intuito de melhorar a performance dos sensores desenvolvidos. Em um primeiro momento, as respostas dos prismas poliméricos necessitam de ajustes. Como observado através das curvas SPRs, a baixa profundidade indica que a remoção do *stress* residual afetou a excitação dos SP. Assim, um estudo mais aprofundado sobre o impacto da birrefringência na qualidade da resposta do sensor SPR pode ser realizado.

Em seguida, aspectos relativos a estrutura mecânica merecem atenção. O estudo, desenho e impressão de peças para criar um dispositivo compacto, barato, de fácil manutenção e com ajuste ideal (alinhamento mecânico) para excitação dos SP se enquadram nos trabalhos futuros.

Nesse sentido, investigar alterações na geometria do prisma também podem levar a novos rearranjos na estrutura do sensor SPR. Como exemplo de estrutura alternativa, a Figura 6.2 apresenta o PPBIO com a vantagem de a imagem SPR ser obtida a partir da base superior, permitindo o posicionamento do detector de forma estratégica, facilitando em alguns aspectos a instrumentação.

Como o uso da camada de ouro para proteção do filme de cobre não interferiu de forma significativa nos valores de  $\lambda_R$  e  $\theta_R$  previstos na Análise de Fresnel, estudos com camadas

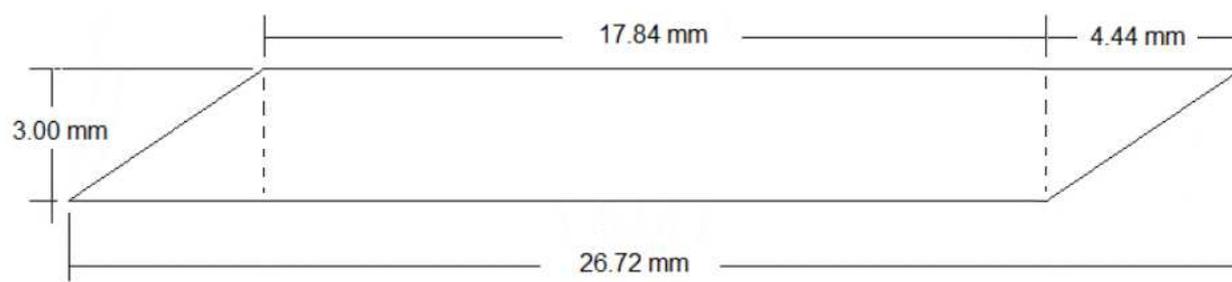
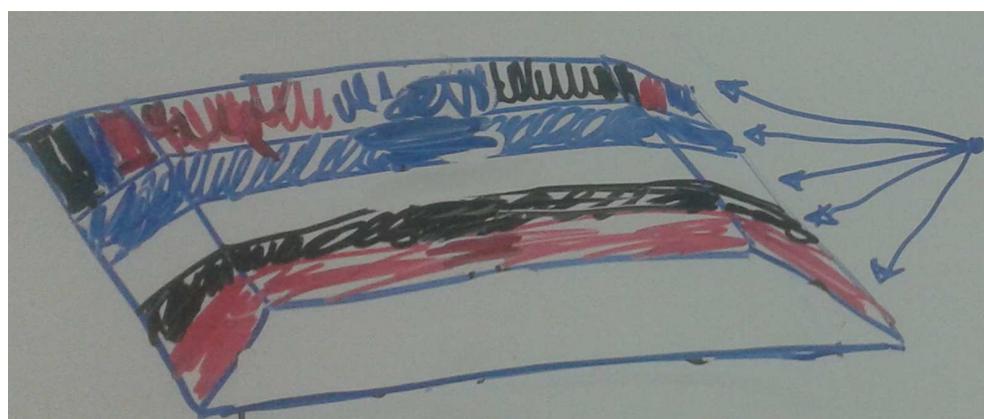


Figura 6.2: Geometria alternativa para PPBIO.

bi-metálicas passam a ser mais um tópico de interesse. A qualidade da resposta de filmes de ouro combinado com prata, cobre ou alumínio já foi iniciado, conforme trabalho apresentado em congresso científico [70]. Todavia, resultados experimentais e a análise de mais combinações precisam ser realizadas.

O padrão de deposição dos filmes metálicos pode ser investigado a fim de estudar novas formas de excitação, novos pontos de operação e novas técnicas de processamento e extração dos parâmetros de interesse. Um exemplo de padrão de deposição está ilustrado na Figura 6.3. Depositando diferentes metais em diferentes partes da superfície superior do PPBIO, é possível a excitação em diferentes pontos de operação, podendo ser utilizado na calibração do sensor, na compensação do efeito da temperatura e eliminação da sensibilidade-cruzada.



**Diferentes padrões de deposição da camada metálica.**

**Linhas de deposição com diferentes metais.**

**Novos algoritmos de extração de parâmetros e processamento da resposta.**

Figura 6.3: Ilustração que exemplifica a alteração no padrão de deposição da camada metálica na superfície do PPBIO.

Com o uso de um padrão de deposição, outro aspecto que caracteriza um trabalho futuro é a investigação de *multispot*. Trabalhos já iniciados [82] apontam para uma melhora na

qualidade da resposta de um sensor SPR quando o processamento *multispot* é empregado, evitando a dependência das substâncias na transição entre os analitos por compensar os defeitos no alinhamento mecânico entre os componentes ópticos do sensor.

Outro trabalho imediato é a investigação sobre o efeito do SPR splitting em filmes de alumínio. O duplo valor mínimo obtido com o splitting SPR viabiliza a obtenção dos valores de índices de refração e espessura ao mesmo tempo.

Usar outros metais e substratos para excitação dos SPs será uma outra possibilidade de continuidade do presente trabalho. Conforme trabalho já iniciado [40] há uma série de pares substrato/metal que são viáveis para o desenvolvimento de sensores SPR.

Entre outras possibilidades, finaliza-se destacando que o desenvolvimento de sensores com as formas de excitação localizada (LSPR) e de longo-alcance (LRSPP), o estudo sobre os plasmons radiativos e sobre a adesão de proteínas (BSA e Avidina por exemplo) em diferentes camadas metálicas, além do cálculo dos parâmetros cinéticos de reações químicas e o refinamento do modelo teórico também ensejam novos trabalhos.

# Apêndice A

## Fabricação do PPBIO

### Injeção

Os prismas foram manufacturados utilizando a máquina de injeção SEMERARO PPIS 50/30T. Como indicado na Figura A.1, a máquina de injeção possui ajustes de operação os quais são regulados para cada polímero utilizado. Em seu funcionamento, os grãos do polímero são inseridos no funil e conduzidos ao cilindro de injeção. Uma rosca conduz o polímero por este cilindro, que é dotado de resistências elétricas capazes de aquecer o polímero tornando-o moldável (fluido), até o molde de injeção. O fluido polimérico entra na cavidade do molde e, instantaneamente, a parte extratora é deslocada pressionando o material.

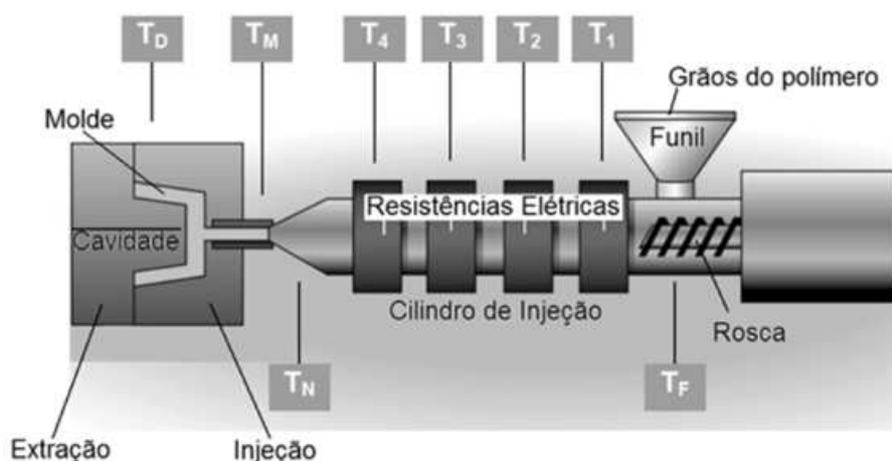


Figura A.1: Estrutura de uma máquina de moldagem por injeção. Os valores representados na imagem para o TOPAS 5013 são:  $T_F = 100^\circ\text{C}$ ,  $T_1 = 230 - 260^\circ\text{C}$ ,  $T_2 = 240 - 260^\circ\text{C}$ ,  $T_3 = 250 - 280^\circ\text{C}$ ,  $T_4 = 260 - 290^\circ\text{C}$  e  $T_N = T_M = 240 - 300^\circ\text{C}$ .

Para o TOPAS 5013, os valores de temperatura estão apresentados na Fig. A.1. A pressão de injeção para moldar o polímero TOPAS exercida pela frente da rosca deve ser de 500 a 1.100 bar (50 - 110 MPa), dependendo do tipo e capacidade da máquina, temperatura do material, diâmetro de abertura do bico de injeção, desenho do molde e lubrificação. O tempo de injeção, intervalo entre o instante em que a rosca começa seu avanço até a pressão parar de agir, deve ser em torno de 10s. Tudo isso com uma velocidade de injeção em torno de 50-150 mm/s.

Um resumo das características de injeção para os polímeros utilizados encontram-se na Tabela A.1. Para cada polímero a máquina deve ser reajustada com os parâmetros exigidos por cada material. Como apresentado na tabela, todos os polímeros trabalham como molde aquecido.

Tabela A.1: Propriedades de injeção dos polímeros utilizados.

Características de Injeção		
ACRIGEL LEP100	PC HFD 1830	TOPAS 5013
temperatura de secagem = 85°C tempo de secagem = 4hr temperatura traseira (rear) = 235°C temperatura do meio = 245°C temperatura da frente = 240°C	temperatura de secagem = 104 a 110°C tempo de secagem = 3 a 4hr (max.<24hr) Temp. traseira (rear) = 238 a 282°C Temp. do meio = 249 a 293°C Temp. da frente = 260 a 304°C	temperatura de secagem = 100°C tempo de secagem = 6hrs Temp. de alimentação(funil-TF) = 100°C Zona 1 (T1) = 230 a 260°C Zona 2 (T2) = 240 a 270°C Zona 3 (T3) = 250 a 280°C Zona 4 (T4) = 260 a 290°C
temperatura do bico(nozzle) = 235°C Temp. de derretimento(melt) = 110°C temperatura do molde = 60°C velocidade da rosca = -	Temp. do bico(nozzle)= 254 a 299°C T. de derretimento(melt) = 260 a 304°C temperatura do molde = 48.9 a 82.2°C velocidade da rosca = 35 - 75 rpm	Temp. do bico(nozzle-TN) = 240 a 300°C Temp. de derretimento(melt) = 137°C Temp. do molde (TD) = 95 a 125°C velocidade da rosca = 50 - 200 rpm

Um comparativo entre os polímeros utilizados encontram-se na Tabela A.2. Os polímeros escolhidos possuem altos valores de transmitância e o PC possui o maior valor para a constante de stress óptico, acarretando em altos índices de birrefringência.

Tabela A.2: Quadro comparativo de propriedades dos polímeros utilizados

Propriedade	Unidade	TOPAS COC 5013	Policarbonato (PC)	Acrílico (PMMA)
Transmissão da luz	%	91,4	87-89	91-92
Absorção de água	%	0,01	0,2	0,3
Birrefringência	nm	<20	<65	<20
Cte. stress óptico	10 <sup>-12</sup> /Pa	-2 a -7	66 a 77	-4,5 a -4,8
Índice de refração	(670nm)	1,53	1,579	1,49
Coef. de expansão linear	°C <sup>-1</sup>	6×10 <sup>-5</sup>	7×10 <sup>-5</sup>	6×10 <sup>-5</sup>

## Molde

Para manufatura do PPBIO os polímeros foram injetados no molde usinado na CNC Hardinge XR600 5AX comercializada pela empresa Ergomat. O desenho do molde completo encontra-se na Figura A.3. As etapas para construção do molde são:

- Confeccção do postigo: Usinagem CNC das cavidades (prismas) e usinagem de eletrodos; Erudir as cavidades.
- Porta molde: Usinagem do alojamento do postigo e dos furos para refrigeração na Placa Superior (placa P2); Usinagem do alojamento do anel de centragem e do bico de injeção na Placa Inferior (placa P1); Usinagem do alojamento da bucha e canal de injeção; Placa Suporte e placas extratoras, além dos furos para os pinos extratores.
- Usinagem dos itens complementares: Anel de centragem; Bucha de injeção; Bucha do pino extrator (Torno e Fresa) e os Bicos de entrada e saída de água para aquecimento/resfriamento do molde.

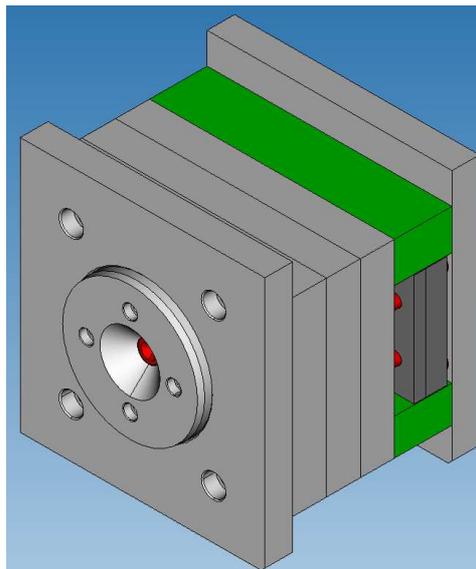


Figura A.2: Imagem tridimensional ilustrando todas as partes (placas, postigo e demais itens) que compõem o molde.

## Polimento

O polimento melhora a excitação dos plasmons de superfície, enfatizando a profundidade/contraste da curva SPR, reduzindo as perdas de transmitância. Além disso, o uso de superfícies polidas minimiza o aparecimento dos plasmons radiativos [33, 85, 86], os quais surgem na excitação dos SPs em superfícies com elevados valores de rugosidade ( $>10 \text{ \AA}$ ).

Como apresentado na Figura A.3, exemplos de prismas de BK7 com superfícies contendo muitos arranhões foram utilizados para excitação dos SPs e os resultados foram comparados com prismas de TOPAS com superfícies contendo menos arranhões, i.e., mais polidas. Nota-se a excitação simultânea dos SPs-radiativos e não-radiativos mais evidentes nas superfícies não-polidas, devido principalmente ao ganho de momento dos fótons incidentes devido a rugosidade da superfície.

O processo de polimento dos prismas ocorreu em estágios de polimento na ordem de  $5\mu\text{m}$ ,  $3\mu\text{m}$ ,  $1\mu\text{m}$  e  $0,3\mu\text{m}$ , usando lixas de óxido de alumínio e carboneto de silício comercializadas pela Thorlabs.

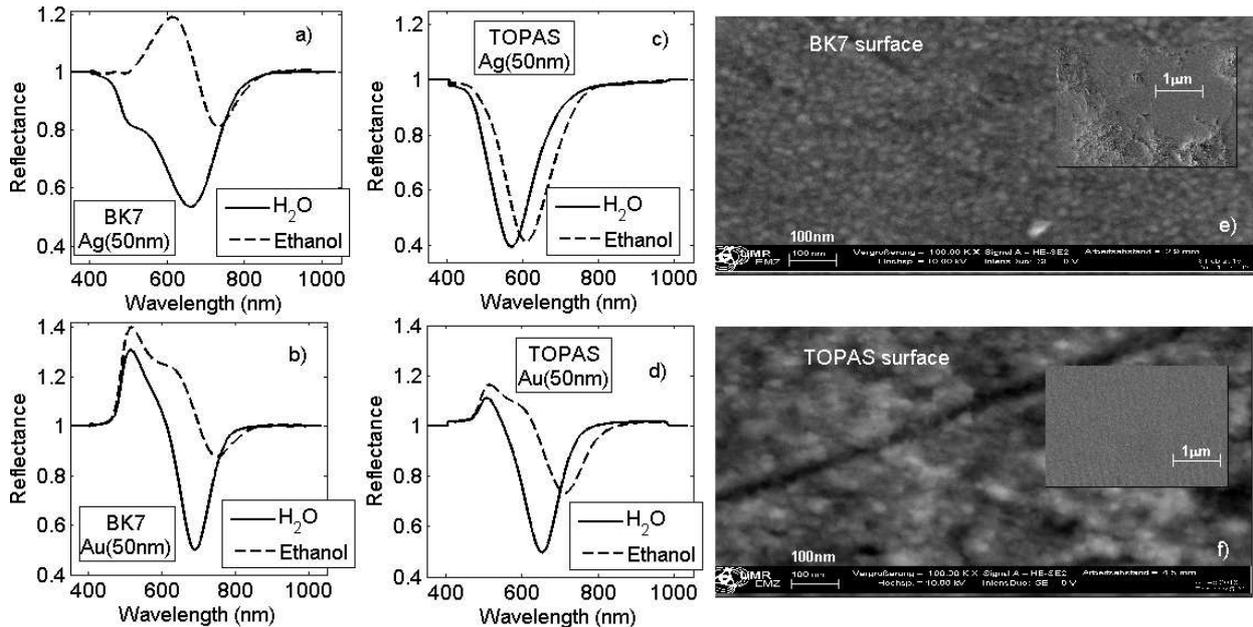


Figura A.3: Exemplo de curvas SPRs com (BK7-Ag-Etanol, BK7-Au e TOPAS-Au) e sem (BK7-Ag-H<sub>2</sub>O e TOPAS-Ag) excitação simultânea dos plasmons de superfície e dos plasmons-radiativos. Detalhe para as superfícies de prisma de BK7 (mais arranhões) e de TOPAS (menos arranhões).

**Annealing**

A etapa final da fabricação do PPBIO antes da deposição do filme metálico é o tratamento térmico, o *annealing*. Utilizou-se uma estufa para realizar o recozimento dos prisma. Detalhes dos procedimentos e exemplos de prisma com e sem *annealing* encontram-se no Capítulo 4 desse trabalho.

Os resultados da sensibilidade e detectividade obtidos com os prismas manufaturados e utilizados na construção do sensor SPR operando nos modos AIM e WIM encontram-se resumidos na Figura A.4.

Figura A.4: Resumo dos valores de sensibilidade e detectividade teóricos e experimentais para os modos AIM e WIM.

Sensibilidade (nm/RIU- $S_\lambda$ ou °/RIU- $S_\theta$ )									
Substrato		BK7		TOPAS		PMMA		PC	
		WIM ( $S_\lambda$ )	AIM ( $S_\theta$ )	WIM ( $S_\lambda$ )	AIM ( $S_\theta$ )	WIM ( $S_\lambda$ )	AIM ( $S_\theta$ )	WIM ( $S_\lambda$ )	AIM ( $S_\theta$ )
Au	Teoria	5.323,33	129,17	3.758,33	134,50	9.355,00	113,50	2.256,67	142,33
	Experimento	3.293,49	117,79	2.002,00	130,86	4.740,09	123,33	1.237,05	132,06
Ag	Teoria	5.800,00	131,83	4.130,0	138,30	9.910,0	117,33	2.753,33	156,83
	Experimento	5.333,01	91,26	2.986,25	104,21	4.918,43	96,76	1.612,53	93,06
Al	Teoria	5.838,33	148,83	7.445,00	96,17	6.728,00	122,67	181,67	69,83
	Experimento	1.638,83	118,60	444,85	11,51	3.087,00	109,40	-	-
Cu	Teoria	5.631,67	127,83	3.871,67	125,33	9.876,11	109,50	2.031,67	129,17
	Experimento	4.056,88	116,04	3.265,56	125,09	4.938,70	104,21	1.787,70	119,80

Detectividade (RIU <sup>-1</sup> ) x10 <sup>4</sup>									
Substrato		BK7		TOPAS		PMMA		PC	
		WIM ( $D_\lambda$ )	AIM ( $D_\theta$ )	WIM ( $D_\lambda$ )	AIM ( $D_\theta$ )	WIM ( $D_\lambda$ )	AIM ( $D_\theta$ )	WIM ( $D_\lambda$ )	AIM ( $D_\theta$ )
Au	Teoria: $\langle v_\lambda \rangle = 0,1\text{nm}$ , $D_\lambda = D_\theta$	5,321	5,321	3,458	3,458	5,321	5,321	2,251	2,251
	Exp.	4,419	6,649	0,696	1,539	4,098	3,627	1,789	0,670
Ag	Teoria	5,781	5,781	4,134	4,134	5,781	5,781	2,75	2,75
	Exp.	3,555	2,943	5,440	0,354	5,385	15,80	4,200	2,515
Al	Teoria	5,836	5,836	6,871	6,871	12,93	12,93	0,182	0,182
	Exp.	2,860	2,044	0,304	0,0423	1,034	1,936	-	-
Cu	Teoria	5,641	5,641	3,871	3,871	5,641	5,641	2,032	2,032
	Exp.	5,931	3,061	3,356	2,978	5,350	2,647	1,845	2,459

# Apêndice B

## Deposição de filmes finos

Os filmes metálicos foram depositados com o sistema de alto vácuo para a geração de películas finas Cryofox Explorer 600LT, comercializado pela empresa Polyteknik. Para deposição do filme metálico, faz-se necessário a limpeza da superfície do prisma. O equipamento possibilita o processo de deposição de filmes finos por meio das técnicas de *magnetron sputtering* e/ou por meio de *e-beam*.

### *Magnetron sputtering*

A deposição catódica através da técnica de *Sputtering* é um processo no qual átomos de um material sólido (alvo) são extraídos bombardeando a superfície desse material com partículas de alta energia, que em geral são íons de um gás inerte ionizado [89]. O material alvo serve como catodo aplicando-lhe uma tensão negativa, enquanto as paredes da câmara funcionam como anodo. Evacua-se a câmara com o uso de bombas de vácuo. Em seguida, o gás inerte (usualmente Argônio) é injetado e através de descargas elétricas o plasma é gerado. Os íons oriundos do plasma bombardeiam a superfície do alvo, e por transferência de momento, pulveriza o PPBIO com átomos do material alvo [89]. Os átomos pulverizados atravessam o plasma e atingem a superfície do PPBIO, onde podem se condensar e formar o filme metálico.

Aumentar a taxa de ionização dos íons do gás inerte durante o processo de *sputtering*, para atingir melhores condições de pulverização, com o uso de campos magnéticos define o *magnetron sputtering* [89]. Para isso, ímãs são colocados por trás do catodo (material

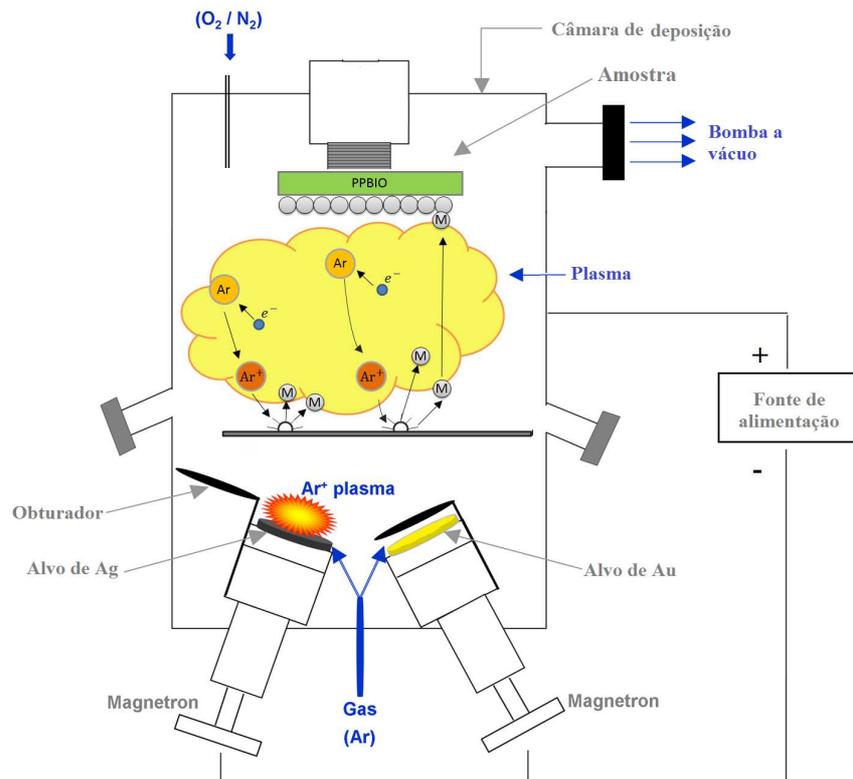


Figura B.1: Esquema para um sistema de deposição por *magnetron sputtering*.

alvo) com o objetivo de confinar os elétrons próximos a superfície do alvo devido ao campo magnético. Um esquema para o *magnetron sputtering* é apresentado na Figura B.1.

A taxa de *sputtering*, e consequentemente da espessura do filme formado na superfície do prisma, depende do tempo e da corrente utilizada na pulverização. As curvas de ajuste espessura *vs.* corrente obtidas para os magnetrons AC e DC operando a uma potência de 200 W encontram-se na Figura B.2.

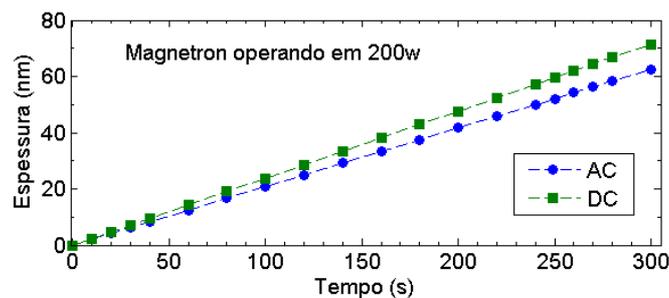


Figura B.2: Curva de calibração da espessura do filme fino depositado no PPBIO usando os *magnetrons* AC e DC. O modo DC é mais eficiente do que o modo AC por depositar mais material em menos tempo.

***E-beam***

A evaporação por feixe de elétrons (*e-beam*) é uma técnica na qual um intenso feixe de elétrons gerado a partir de um filamento de tungstênio é conduzido por campos magnéticos à bombardear um material alvo (exemplo: cadinhos cheios de Al ou Si). Esse bombardeamento acontece em ambiente de vácuo (câmara). Em um determinado momento, a superfície do material alvo irá aquecer (*spot*) e os átomos da superfície terão energia suficiente para deixá-la [90]. Assim, esses átomos atravessam a câmara de vácuo e atingem a superfície do PPBIO onde podem se condensar e formar o filme metálico.

Um esquema para o e-beam é apresentado na Figura B.3. O equipamento Cryofox possui uma micro-balança de cristal de quartz (QCM, sigla em inglês) responsável por medir a espessura da camada depositada. Existe uma relação entre o que é depositado na QCM e o que efetivamente é depositado no prisma, originando um erro máximo de 5 nm no valor da espessura da camada formada na superfície do PPBIO.

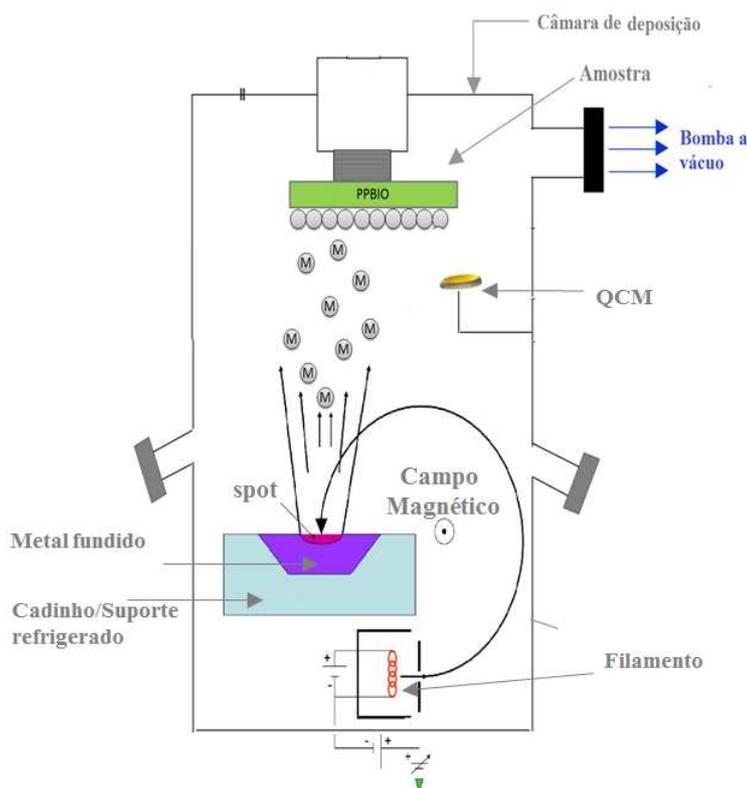


Figura B.3: Esquema para um sistema de deposição através da evaporação por feixe de elétrons (*e-beam*).

# Apêndice C

## Caracterização de filmes finos

Os filmes finos foram analisados utilizando o elipsometro SENPRO e SENadv 400 da empresa Sentech e através de um microscópio de força atômica (AFM, sigla em inglês) e de varredura eletrônica (SEM, sigla em inglês).

### Elipsometria

A elipsometria mede a mudança na polarização da luz refletida ou transmitida de um material. Em especial, está interessada como as componentes de polarização p e s mudam uma em relação a outra após a reflexão ou transmissão. Assim, uma das componentes é refletida/transmitida a partir do material e a polarização de saída é medida.

A mudança de polarização é representada em termos da razão de amplitude ( $\Psi$ ) e da diferença de fase ( $\Delta$ ) entre as componentes s e p. A mudança de polarização ( $\rho$ ) é comumente expressa por [91]:

$$\rho = \tan(\Psi)e^{i\Delta} \quad (\text{C.1})$$

A Figura C.1 ilustra um exemplo de medição de elipsometria. A luz incidente é linearmente polarizada e composta das componentes p e s. A luz refletida possui alterações de amplitude e fase para ambas as componentes da luz em relação a luz incidente, e o elipsômetro mede tais mudanças. Para ser capaz de medir a mudança de polarização, um elipsômetro possui, entre outros componentes, uma fonte de luz, um gerador de polarização, um analisador de polarização e um detector óptico (câmera CCD/CMOS ou espectrômetro). O gerador e o analisador de polarização são compostos de polarizadores, compensadores e

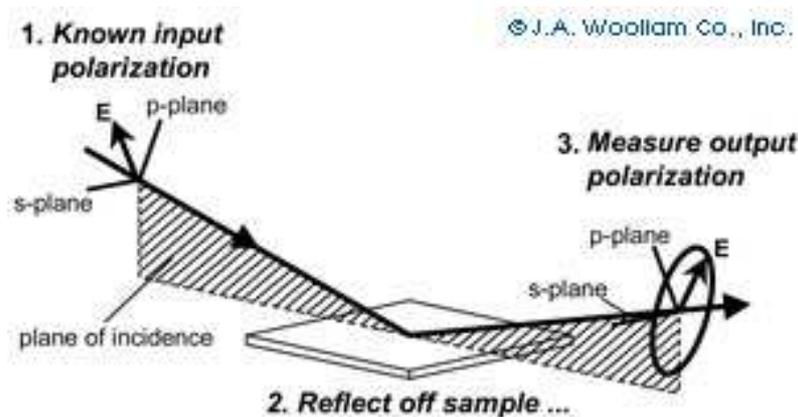


Figura C.1: Configuração típica de um elipsômetro que utiliza a luz refletida da superfície do material e a mudança de polarização. Fonte [91]

moduladores de fase. Nos elipsômetros utilizados tais componentes são automatizados, incluindo analisadores rotacionais, polarizadores rotacionais, compensadores rotacionais e moduladores de fase.

A resposta do elipsômetro depende das propriedades ópticas e da espessura do material. A elipsometria é empregada principalmente para determinar espessura de filmes finos e os valores da função dielétrica.

## Microscopia

Além da elipsometria, imagens obtidas com microscópios SEM e AFM completam a caracterização dos filmes metálicos depositados no PPBIO.

Como apresentado na Figura C.3, diferente de um microscópio óptico convencional que ilumina o material, tipicamente com uma luz branca, um microscópio eletrônico de varredura utiliza um feixe de elétrons para varrer a superfície da amostra, gerando elétrons secundários que são captados por um sensor. O sinal capturado é convertido em valores de pixel gerando uma imagem topográfica da superfície do material.

Um microscópio de força atômica, por sua vez, não possui lentes que focalizam a luz ou feixe de elétrons como nos microscópios ópticos e eletrônicos, respectivamente. O AFM constrói a imagem topográfica através de uma sonda, colocada em contato com a amostra, que percorre varrendo toda a superfície do material.

A tecnologia por varredura de sonda usada pelo AFM permite analisar amostras biológi-

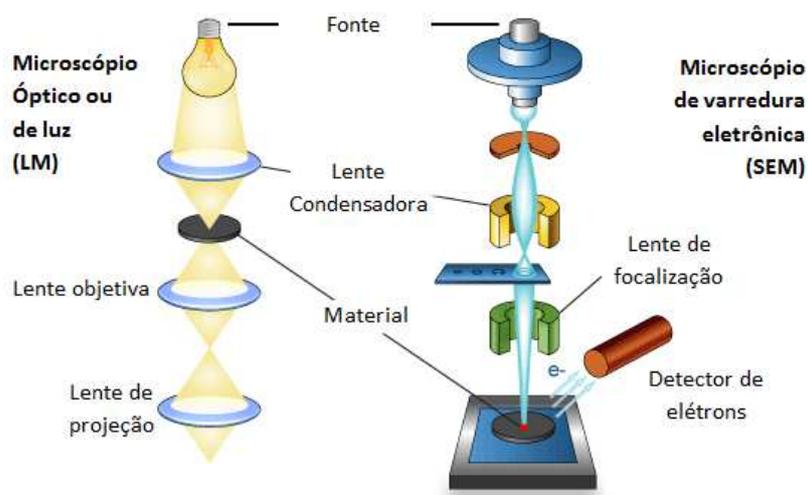


Figura C.2: Esquema simplificado de um microscópio eletrônico de varredura (SEM). Comparação com o esquema de um microscópio óptico convencional. Componentes principais indicados na figura. Fonte [92].

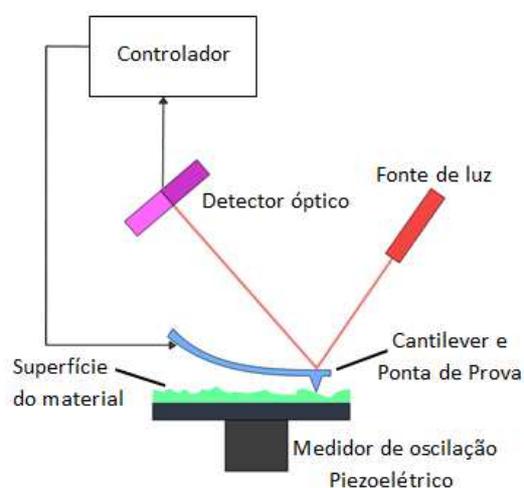


Figura C.3: Esquema de um microscópio de força atômica (AFM). Os principais componentes estão indicados na figura. Fonte [93].

cas, amostras em meio líquido ou em ar, possibilidade de caracterizar propriedades elétricas, magnéticas, ópticas, adesivas e com resolução que podem chegar até a escala atômica.

# Referências Bibliográficas

- 1 HOMOLA, J. Surface plasmon resonance sensors: review. *Sensors and Actuators B*, v. 54, p. 3–15, 1999.
- 2 MAYER, K.M.; HAFNER, J.H. Localized surface plasmon resonance sensors. *Chem. Rev.*, v. 111, p. 3828–3857, 2011.
- 3 SHARMA, A. K.; JHA, R.; GUPTA, B. D. Fiber-optic sensors based on surface plasmon resonance: A comprehensive review. *IEEE Sens. J.*, v. 7, p. 1118–1129, 2007.
- 4 HOMOLA, Jirí; KOUDELA, Ivo; YEE, Sinclair S. Surface plasmon resonance sensors based on diffraction gratings and prism couplers: sensitivity comparison. *Sensors and Actuators B*, v. 54, p. 16–24, 1999.
- 5 SLAVÍK, R.; HOMOLA, J. Simultaneous excitation of long and short range surface plasmons in an asymmetric structure. *Optics Communications*, v. 259, p. 507–512, 2006.
- 6 ROH, S.; CHUNG, T.; LEE, B. Overview of the characteristics of micro- and nano-structured surface plasmon resonance sensors. *Sensors*, v. 11, p. 1565–1588, 2011.
- 7 SADOWSKI, J.W.; LEKKALA, J.; VIKHOLM I. Biosensors based on surface plasmons excited in non-noble metals. *Biosensors & Bioelectronics*, v. 6, p. 439–444, 1991.
- 8 MITSUSHIO, M.; MIYASHITA, K.; HIGO, M. Sensor properties and surface characterization of the metal-deposited spr optical fiber sensors with au, ag, cu, and al. *Sensors and Actuators A*, v. 125, p. 296–303, 2006.
- 9 ABBAS, Abdennour; LINMAN, Matthew J.; CHENG, Quan. New trends in instrumental design for surface plasmon resonance-based biosensors. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 26, p. 1815–1824, 2011.
- 10 HOA, X.D.; KIRK, A.G.; TABRIZIAN, M. Towards integrated and sensitive surface plasmon resonance biosensors: A review of recent progress. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 23, p. 151–160, 2007.
- 11 DAMOS, Flavio S.; LUZ, Rita C. S.; KUBOTA, Lauro T. Determination of thickness, dielectric constant of thiol films, and kinetics of adsorption using surface plasmon resonance. *Langmuir*, v. 21, p. 602–609, 2005.
- 12 FAN, Xudong; WHITE, Ian M.; SHOPOVA, Siyka I.; ZHU, Hongying; SUTER, Jonathan D.; SUN, Yuze. Sensitive optical biosensors for unlabeled targets: A review. *Analytica chimica acta*, v. 620, p. 8–26, 2008.

- 13 TONG, Lianming; WEI, Hong; ZHAN, Shunping; XU, Hongxing. Recent advances in plasmonic sensors. *Sensors*, v. 14, p. 7959–7973, 2014.
- 14 HOMOLA, Jirí. Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species. *Chem. Rev.*, v. 108, p. 462–493, 2008.
- 15 KUMBHATA, Sunita; SHARMAA, Kavita; GEHLOTA, Rakhee; SOLANKIB, Aruna; JOSHI, Vinod. Surface plasmon resonance based immunosensor for serological diagnosis of dengue virus infection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 52, p. 255–259, 2010.
- 16 YUK, Jong Seol; HA, Kwon-Soo. Proteomic applications of surface plasmon resonance biosensors: analysis of protein arrays. *Exp. Mol. Med.*, v. 37, p. 1–10, 2005.
- 17 MYSZKA, David G.; RICH, Rebecca L. Implementing surface plasmon resonance biosensors in drug discovery. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, v. 3, p. 310–317, 2010.
- 18 WANG, Qing; LIU, Rongjuan; YANG, Xiaohai; WANG, Kemin; ZHU, Jinqing; HE, Leiliang; LI, Qing. Surface plasmon resonance biosensor for enzyme-free amplified microRNA detection based on gold nanoparticles and DNA supersandwich. *Sensors and Actuators B: Chemical*, p. –, 2015.
- 19 MAYNARD, Jennifer A.; LINDQUIST, Nathan C.; SUTHERLAND, Jamie N.; LESUFFLEUR, Antoine; WARRINGTON, Arthur E.; RODRIGUEZ, Moses; OH, Sang-Hyun. Next generation SPR technology of membrane-bound proteins for ligand screening and biomarker discovery. *Biotechnol J.*, v. 4, p. 1542–1558, 2009.
- 20 MOREIRA, C. S. *Projeto e realização de um biochip óptico para aplicações bilógicas baseado no princípio de ressonân de plásmos de superfície*. Dissertação (Tese de Doutorado) — Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande-Brasil, 2010.
- 21 FREESTONE, I.; MEEKS, M. Sax N.; HIGGITT, C. The lycurgus cup - a roman nanotechnology. *Gold Bulletin*, v. 4, p. 270, 2007.
- 22 MORGAN, C.L.; NEWMAN, D.J.; PRICE, C.P. Immunosensors: Technology and opportunities in laboratory medicine. *Clinical Chemistry*, v. 42, p. 193–209, 1996.
- 23 WOOD, R.W. On a remarkable case of uneven distribution of light in a diffraction grating spectrum. *Philosophical Magazine Series 6*, v. 4, p. 151–160, 1902.
- 24 RITCHIE, R. H.; ARAKAWA, E. T.; COWAN, J. J.; HAMM, R. N. Surface-plasmon resonance effect in grating diffraction. *Phys. Rev. Lett.*, v. 21, p. 1530, 1968.
- 25 KRETSCHMANN, E.; RAETHER, H. Radiative decay of non radiative surface plasmons excited by light. *Z. Naturforsch*, v. 23, p. 2136, 1968.
- 26 OTTO, A. Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection. *Z. F. Physik*, v. 216, p. 398, 1968.

- 27 LIEDBERG, Bo; NYLANDER, Claes; LUNSTRÖM, Ingemar. Surface plasmon resonance for gas detection and biosensing. *Sensors and Actuators*, v. 4, p. 299–304, 1983.
- 28 LIEDBERG, Bo; NYLANDER, Claes; LUNSTRÖM, Ingemar. Biosensing with surface plasmon resonance-how it all started. *Biosensors and Bioelectronics*, v. 10, p. 1–9, 1995.
- 29 HOMOLA, Jirí. On the sensitivity of surface plasmon resonance sensors with spectral interrogation. *Sensors and Actuators B*, v. 41, p. 207–211, 1997.
- 30 SHARMA, A.K.; MOHR, G.J. On the performance of surface plasmon resonance based fibre optic sensor with different bimetallic nanoparticle alloy combinations. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, v. 41, 2008.
- 31 SAMBLE, J.R.; BRADBURY, G.W.; YANG, F. Optical excitation of surface plasmons: an introduction. *Contemporary Physics*, v. 32, p. 173–183, 1991.
- 32 ECONOMOU, E.N. Surface plasmons in thin films. *Phys. Rev.*, v. 182, p. 539, 1969.
- 33 RAETHER, H. *Surface Plasmons on Smooth and Rough Surfaces and on Gratings*. Berlin: Springer, 1988.
- 34 **L.C. OLIVEIRA**; MOREIRA, C.S.; THIRSTRUP, C.; MELCHER, E.U.K.; LIMA, A.M.N.; NEFF, F. H. A surface plasmon resonance biochip that operates both in the angular and wavelength interrogation modes. *IEEE TIM*, v. 62, p. 1223–1232, 2013.
- 35 DIONNE, J.A.; SWEATLOCK, L.A.; ATWATER, H.A.; POLMAN, A. Planar metal plasmon waveguides: frequency-dependent dispersion, propagation, localization, and loss beyond the free electron model. *Physical Review B*, v. 72, p. 075405–1–11, 2005.
- 36 ABELÈS, F. La theorie generale des couches minces. *J. Phys. Radium*, v. 11, p. 307–309, 1950.
- 37 SHALABNEY, A.; ABDULHALIM, I. Electromagnetic fields distribution in multilayer thin film structures and the origin of sensitivity enhancement in surface plasmon resonance sensors. *Sensors and Actuators A*, v. 159, p. 24–32, 2010.
- 38 FILHO, C. A. S. *Desenvolvimento de um sistema eletrônico de aquisição e processamento para biossensores*. Dissertação (Dissertação de Mestrado) — Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande-Brasil, 2006.
- 39 SARID, D. Long-range surface-plasma waves on very thin metal films. *Physical Review Letters*, v. 47, p. 1927–1930, 1981.
- 40 **L.C. OLIVEIRA**; LIMA, A.M.N.; THIRSTRUP, C.; NEFF, H. *Surface Plasmon Resonance Sensors - A Materials Guide to Design and Optimization*. Berlin: Springer, 2015.
- 41 BOHREN, C.F.; HUFFMAN, D.R. *Absorption and scattering of light by small particles*. [S.l.]: Wiley-VCH Verlag GmbH, 1998.

- 42 HERGERT, W.; WRIEDT, T. *The Mie Theory, Springer Series in Optical Sciences 169; Chapter 2, Mie Theory: A Review by T. Wriedt*. Berlin: Springer-Verlag, 2012.
- 43 WILLETS, K.A.; DUYN, R.P. Van. Localized surface plasmon resonance spectroscopy and sensing. *Annu. Rev. Phys. Chem.*, v. 58, p. 267–297, 2007.
- 44 KIM, D.K.; KERMAN, K.; SAITO, M.; SATHULURI, R.R.; ENDO, T.; YAMAMURA, S.; KWON, Y.S.; TAMIYA, E. Label-free dna biosensor based on localized surface plasmon resonance coupled with interferometry. *Anal. Chem.*, v. 79, p. 1855–1864, 2007.
- 45 THIRSTRUP, C.; ZONG, W.; NEFF, H. *Surface Plasmon Resonance Sensor, US Patent 00181954*. 2005.
- 46 JUNIOR, L.H.C. de Lima; SCHELP, L.F.; **L.C. OLIVEIRA**; NETO, A.G.S. Barreto; LIMA, A.M.N.; NEFF, H. A fiber optical thermometer for high power transformer monitoring utilizing the thermo-optical phase transition of vo2. *I2MTC Proceedings*, v. 1, p. 1387–1390, 2012.
- 47 ZHANG, Y.Y.; LAI, J.C.; YIN, C.Y.; WANG, Q.H.; LI, Z.H. The influences of the probe beam divergence on the performance of imaging surface plasmon resonance sensors. *Opt. Lasers Eng.*, v. 46, p. 635–642, 2008.
- 48 KASAROVA, S.N.; SULTANOVA, N.G.; IVANOV, C.D.; NIKOLOV, I.D. Analysis of the dispersion of optical plastic materials. *Optical Mterials*, v. 29, p. 1482–1490, 2007.
- 49 SCHOTT. *Refractive Index and Dispersion, TIE-29, p. 1-15, 2005*.
- 50 FONTANA, Eduardo. Thickness optimization of metal films for the development of surface-plasmon-based sensors for nonabsorbing media. *Applied Optics A*, v. 45, p. 7632–7642, 2006.
- 51 WEST, Paul R.; ISHII, Satoshi; NAIK, Gururaj V.; EMANI, Naresh K.; SHALAEV, Vladimir M.; BOLTASSEVA, Alexandra. Searching for better plasmonic materials. *Laser Photonics Rev. 4, No. 6 (2010)*, v. 4, p. 795–7642, 2010.
- 52 LENG, J.; OPSAL, J.; CHU, H.; SENKO, M.; ASPNES, D.E. Analytic representations of the dielectric functions of materials for device and structural modeling. *Thin Solid Films*, v. 313-314, p. 132–136, 1998.
- 53 ETCHEGOIN, P.G.; RU, E.C. Le; MEEYER, M. An analytic model for the optical properties of gold. *The Journal of Chemical Physics*, v. 125, 2006.
- 54 MOREIRA, C.S.; LIMA, A.M.N.; NEFF, H.; THIRSTRUP, C. Temperature dependent sensitivity of surface plasmon resonance sensors at the gold-water interface. *Sensors and Actuators B: Chemical*, v. 134, p. 854–862, 2008.
- 55 OZDEMIR, S.K.; TURHAN-SAYAN, G. Temperature effects on surface plasmon resonance: design considerations for an optical temperature sensor. *Journal Lightwave Technology*, v. 21, p. 805–815, 2003.

- 56 UJIHARA, K. Reflectivity of metals at high temperatures. *J. Appl. Phys.*, v. 43, p. 2376–2383, 1972.
- 57 BORISKIN, V.N.; AYZATSKY, M.I.; BORISKINA, S.V.; MACHEHIN, Y.P.; SEMENOV, A. *Theoretical and Experimental Study of Temperature-Dependent Spectral Properties of Multi-Layer Metal-Dielectric Nano-Film Structures*.
- 58 NEFF, H.; ZONG, W.; LIMA, A.M.N.; BORRE, M.; HOLZHÜTER, G. Optical properties and instrumental performance of thin gold films near the surface plasmon resonance. *Thin Solid Film*, v. 496, p. 688–697, 2006.
- 59 EKGASIT, S.; THAMMACHARROEN, C.; YU, F.; KNOLL, W. Influence of the metal film thickness on the sensitivity of surface plasmon resonance biosensors. *Applied Spectroscopy*, v. 59, 2005.
- 60 KANSO, M.; CUENOT, S.; LOUARN, G. Roughness effect on the spr measurements for an optical fiber configuration: experimental and numerical approaches. *Journal of Optics A: Pure and Applied Optics*, v. 9, p. 586–592, 2007.
- 61 MASUMURA, A.; DAIMON, M. Measurement of the refractive index of distilled water from the near-infrared region to the ultraviolet region. *Appl. Opt.*, v. 46, 2007.
- 62 **L.C. OLIVEIRA**; SOUSA, T.A.T de; LOUREIRO, F.C.C.; MELCHER, E.U.K.; LIMA, A.M.N.; NEFF, H. Sensitivity of an optical sensor that operates at angular or wavelength interrogation. *I2MTC Proceedings*, v. 1, p. 1476–1481, 2013.
- 63 JOHNSON, P. B.; CHRISTY, R. W. Optical constants of the noble metals. *Physical Review B*, v. 6, p. 4370–4379, 1972.
- 64 RAKIC, A. D.; ELAZAR, A. B. Djurić J. M.; MAJEWSKI, M. L. Optical properties of metallic films for vertical-cavity optoelectronic devices. *Appl. Opt.*, v. 37, p. 5271–5283, 1998.
- 65 MCPEAK, K. M.; JAYANTI, S. V.; KRESS, S. J. P.; MEYER, S.; IOTTI, S.; ROSSINELLI, A.; NORRIS, D. J. Plasmonic films can easily be better: Rules and recipes. *ACS Photonics*, v. 2, p. 326–333, 2015.
- 66 MING, W.; BLAIR, S.; LIU, F. Quantum size effect on dielectric properties of ultrathin metallic film: A first-principles study of al(111). *J. of Phy.: Cond. Mat.*, v. 26, p. 1–6, 2014.
- 67 EVERTSSON, J.; BERTRAM, F.; ZHANG, F.; AL., L. Rullik et. The thickness of native oxides on aluminum alloys and single crystals. *Applied Surface Science*, v. 349, p. 826–832, 2015.
- 68 PALIK, E.D. *Handbook of Optical Constants of Solids*. Boston: Academic Press, 1985.
- 69 SOUSA, T.A.T. de; **L.C. OLIVEIRA**; LOUREIRO, F.C.C.; LIMA, A.M.N.; NEFF, H. Evaluating the signal processing chain employed in surface plasmon resonance biosensing. *I2MTC Proceedings*, v. 1, p. 1606–1611, 2014.

- 70 **L.C. OLIVEIRA**; MOREIRA, C.S.; NETO, A.G.S. Barreto; LIMA, A.M.N.; NEFF, H. Effect of different bimetallic layer combinations on the sensitivity of a spr polymer biochip. *15th International Meeting on Chemical Sensors (IMCS) Proceedings*, v. 1, p. 80, 2014.
- 71 INNOVA. *Manual de Injeção. Innova. Disponível em: <http://www.innova.ind.br/upload/others/files/Manual-de-Injecao.pdf>*. 2013.
- 72 OHKITA, H.; ABE, Y.; KOJIMA, H.; TAGAYA, A.; KOIKE, Y. Birefringence reduction method for optical polymers by the orientation-inhibition effect of silica particles. *Appl. Phys. Lett*, v. 84, p. 3534–3536, 2004.
- 73 HORN, G.; LESNIAK, J.; MACKIN, T.; BOYCE, B. Infrared grey-field polariscope: A tool for rapid stress analysis in microelectronic materials and devices. *Review of Scientific Instruments*, v. 76, 2005.
- 74 BACK, H.; NEUROTH, N. *The Properties of Optical Glass*. Berlin: Springer, 1995.
- 75 AKARMAN, M. *A elaboração do Vidro. CETEV-Centro Técnico de Elaboração do Vidro, SAINT-GOBAIN Vidros Brasil*. 2000.
- 76 UTAD. *A deposição de filmes finos. UTAD-Universidade de Trás-Os-Montes e Alto Douro, Portugal. Disponível em: <http://home.utad.pt/ptavares/t-cap3.pdf>*. 2012.
- 77 **L.C. OLIVEIRA**. *Sistema Computacional para Biossensor baseado na Ressonância de Plasma de Superfície*. Dissertação (Dissertação de Mestrado) — Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande-Brasil, 2011.
- 78 STAR, Luxeon. *Power light source, Luxeon Star web site. Disponível em: <http://www.ledsupply.com/docs/Luxeon-StarI.pdf>*. 2010.
- 79 OPTICS, Ocean. *USB4000 Miniature Fiber Optic Spectrometer datasheet, Ocean Optics. Disponível em: <http://www.oceanoptics.com/products/usb4000.asp>*. 2010.
- 80 THORLABS. *CMOS DCC1645C Camera datasheet, Thorlabs. Disponível em: <http://www.thorlabs.us/catalogPages/963.pdf>*. 2011.
- 81 BOECKER, D.; ZYBIN, A.; NIEMAX, K.; GRUNWALD, C.; MIRSKY, V.M. Noise reduction by multiple referencing in surface plasmon resonance imaging. *Rev. Sci. Instrum.*, v. 79, p. 023110–1, 2008.
- 82 **L.C. OLIVEIRA**; PEREIRA, E.G.; OLIVEIRA, R.C.; MORAIS, M.R.A.; LIMA, A.M.N.; NEFF, H. SPR sensor for tampering detection in biofuels. *I2MTC Proceedings*, v. 1, p. 1471–1476, 2015.
- 83 NENNINGER, G.G.; PILIARIK, M.; HOMOLA, J. Data analysis for optical sensors based on spectroscopy of surface plasma. *Measurement Science and Technology*, v. 13, p. 2038–2046, 2002.

- 84 PEREIRA, E.G.; **L.C. OLIVEIRA**; MORAIS, M.R.A.; LIMA, A.M.N.; NEFF, H. Improved data extraction algorithm for biosensors utilizing surface plasmon resonance sensing. *I2MTC Proceedings*, v. 1, p. 1105–1110, 2014.
- 85 KRETSCHMANN, E.; RAETHER, H. Radiative decay of non radiative surface plasmons excited by light. *Z. Naturforsch. A*, v. 23, p. 2135–2136, 1968.
- 86 DREZET, A.; HOHENAU, A.; KOLLER, D.; STEPANOV, A.; DITLBACHER, H.; STEINBERGER, B.; AUSSENEGG, F.R.; LEITNER, A.; KRENN, J.R. Leakage radiation microscopy of surface plasmon polaritons. *SAO/NASA Astrophysics Data System - ARXIV*, p. 1–24, 2010.
- 87 THIRSTRUP, C.; ZONG, W.; BORRE, M.; NEFF, H.; PEDERSEN, H.C.; HOLZHÜETER, G. Diffractive optical coupling element for surface plasmon resonance sensors. *Sensors Actuators B:Chemical*, v. 100, p. 298–308, 2004.
- 88 LIMA, A.M.N.; **L.C. OLIVEIRA**; NEFF, H. Optical properties and instrumental performance of thin aluminum films near the surface plasmon resonance. *Thin Solid Films. No prelo*, p. 1–8, 2016.
- 89 INTERNATIONAL, Inc. AJA. *What is Sputtering?. AJA International Inc web site. Disponível em: <http://hank.uoregon.edu/experiments/AFM/afm.html>*. 2015.
- 90 INTERNATIONAL, Inc. AJA. *What is E-beam evaporation?. AJA International Inc web site. Disponível em: <http://www.ajaint.com/what-is-e-beam-evaporation.html>*. 2015.
- 91 INC., J.A. Woollam Co. *Ellipsometry Measurements. J.A. Woollam web site. Disponível em: [http://www.jawoollam.com/tutorial\\_1.html](http://www.jawoollam.com/tutorial_1.html)*. 2015.
- 92 FACILITY, Australian Microscopy & Microanalysis Research. *What is scanning electron microscopy? Disponível em: <http://www.ammrif.org.au/myscope/sem/background>*. 2015.
- 93 OREGON, University of. *Atomic Force Microscopy (AFM) Project. Disponível em: <http://hank.uoregon.edu/experiments/AFM/afm.html>*. 2015.