

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE ENERGIAS ELÉTRICAS E RENOVÁVEIS
CURSO DE ENGENHARIA ELÉTRICA**

GABRIEL ULYSSES DE OLIVEIRA

**BIOSENSORES BASEADOS EM RESSONÂNCIA DE PLASMONS
DE SUPERFÍCIE UTILIZANDO DISPOSITIVOS COMPUTACIONAIS
PORTÁTEIS**

JOÃO PESSOA

2019

GABRIEL ULYSSES DE OLIVEIRA

**BIOSENSORES BASEADOS EM RESSONÂNCIA DE PLASMONS
DE SUPERFÍCIE UTILIZANDO DISPOSITIVOS COMPUTACIONAIS
PORTÁTEIS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal da
Paraíba como exigência para a obtenção
do título de Bacharel em Engenharia
Elétrica.

Universidade Federal da Paraíba

Centro de Energias Alternativas e Renováveis

Curso de Graduação em Engenharia Elétrica

Orientador: Carlos Alberto de Souza Filho

JOÃO PESSOA

2019

GABRIEL ULYSSES DE OLIVEIRA

**BIOSENSORES BASEADOS EM RESSONÂNCIA DE
PLASMONS DE SUPERFÍCIE UTILIZANDO DISPOSITIVOS
COMPUTACIONAIS PORTÁTEIS**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Universidade Federal da
Paraíba como exigência para a obtenção
do título de Bacharel em Engenharia
Elétrica.

Aprovado em 14 de maio de 2019.

BANCA EXAMINADORA

Carlos Alberto de Souza Filho
Universidade Federal da Paraíba
Orientador

Professor Juan Moises Mauricio Villanueva
Universidade Federal da Paraíba
Convidado 1

Professor Lucas Vinícius Hartmann
Universidade Federal da Paraíba
Convidado 2

JOÃO PESSOA

2019

Agradeço à minha família, ao meu amigo e orientador Carlos Alberto e ao meu grande amigo Rômulo pela motivação e por sempre acreditarem em meu potencial.

RESUMO

Definem-se biossensores como dispositivos que detectam compostos químicos e biológicos através de reações bioquímicas específicas a substâncias isoladas utilizadas na sua composição. Dentre os vários tipos de biossensores, destaca-se o crescente estudo e uso dos biossensores ópticos baseados no princípio de ressonância de plasmons de superfície por apresentarem características como alta seletividade, bom tempo de resposta e imunidade a interferências eletromagnéticas. O trabalho propõe o estudo do princípio e dos biossensores para realizar o desenvolvimento de uma plataforma para o uso desses dispositivos utilizando *smartphones*, dispositivos portáteis acessíveis e amplamente utilizados pela população, oferecendo, assim, uma alternativa aos tradicionais equipamentos complexos e de alto custo normalmente associados com a técnica estudada. Para isso, desenvolve-se e descreve-se uma estrutura mecânica e um *software Android* dedicado para a plataforma proposta. Por fim são coletados resultados para avaliar o sistema desenvolvido e definir os próximos passos do trabalho.

Palavras-Chaves: ressonância de plasmons de superfície (SPR); biossensores; *Android*; *biochip*.

ABSTRACT

Biosensors are defined as devices that detect chemical and biological compounds through specific biochemical reactions to isolated substances used in their composition. Among the various types of biosensors, stands out the growing study and use of optical biosensors based on the principle of surface plasmon resonance because they present characteristics such as high selectivity, good response time and immunity to electromagnetic interference. The work proposes the study of the principle and biosensors to develop a platform for the use of these devices using smartphones, accessible portable devices widely used by the population, thus offering an alternative to the traditional complex and of high cost equipment normally associated with the technique studied.

Keywords: surface plasmon resonance (SPR); biosensors; *Android*; *biochip*.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Diagrama de blocos de um biossensor SPR.....	13
Figura 2 - Sistema proposto por Preechaburana et al. (2012).....	14
Figura 3 - Trabalho desenvolvido por Yun et al. (2015).....	15
Figura 4 - Trabalho desenvolvido por Souza Filho (2017).....	15
Figura 5 - Diagrama de blocos de um biossensor.	18
Figura 6 - Classificação biológica dos biossensores.	19
Figura 7 - Fenômeno SPR.....	22
Figura 8 - Diagrama de blocos de um biossensor SPR.....	25
Figura 9 - Ciclo de vida das atividades.....	27
Figura 10 - Camera API.....	28
Figura 11 - Camera2 API.....	29
Figura 12 - Arquitetura do sistema desenvolvido.....	32
Figura 13 - Estrutura mecânica desenvolvida.....	33
Figura 14 - Leiaute do software desenvolvido.	35
Figura 15 - Diagrama de estados do software desenvolvido.....	36
Figura 16 - Diagrama de classes do aplicativo existente.....	39
Figura 17 - Experimento falho.	40
Figura 18 - Curvas SPR do experimento de validação do sistema.....	42
Figura 19 - Zoom na região central das curvas SPR.	43
Figura 20 - Curvas SPR do experimento realizado.	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características das principais classes de biossensores.....	20
Tabela 2 - Tipos de transdutores mais utilizados em biossensores.	21

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1. MOTIVAÇÃO	12
1.2. OBJETIVOS	16
1.2.1. Objetivo Geral.....	16
1.2.2. Objetivos Específicos.....	16
1.2. ESCOPO	16
2. REFERÊNCIAL TEÓRICO	18
2.1. BIOSSENSORES.....	18
2.1.1. Tipos de biossensores	19
2.2. BIOSSENSORES SPR	21
2.3. DESENVOLVIMENTO ANDROID	26
2.3.1. Câmera2 API	27
3. DESCRIÇÃO DO SISTEMA	32
3.1. ESTRUTURA MECÂNICA.....	33
3.2. SOFTWARE	34
3.2.1. Interface	34
3.2.2. Funcionalidade.....	35
3.2.3. Modos de captura	40
3.3. VALIDAÇÃO DO SISTEMA.....	41
3.3.1. PROCEDIMENTO	41
3.3.2. RESULTADOS	42
4. CONCLUSÕES.....	46
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48

1. INTRODUÇÃO

1.1. MOTIVAÇÃO

A necessidade de detecção e sensoriamento de substâncias de interesse aumenta constantemente à medida em que a ciência evolui e identifica elementos causadores, indicadores e consequentes de fenômenos e situações estudadas.

A descoberta da relação de alguma substância com o desenvolvimento de uma doença, por exemplo, urge métodos para a detecção dessa substância, seja ela em alimentos ou ambientes. Do mesmo modo, a capacidade de monitoramento dos níveis de glicose no sangue de um indivíduo diabético possibilita uma melhora de qualidade de vida jamais imaginada em outros tempos. Inúmeros são os exemplos existentes, englobando desde a detecção de substâncias tóxicas em alimentos e bebidas a análises laboratoriais mais complexas envolvendo marcadores genéticos ou quantidades hormonais.

Conclui-se que técnicas e dispositivos com menores complexidade, custo e tamanho são sempre bem-vindos e cada vez mais necessários para a melhoria da qualidade de vida e saúde do ser humano, em especial para as populações mais carentes.

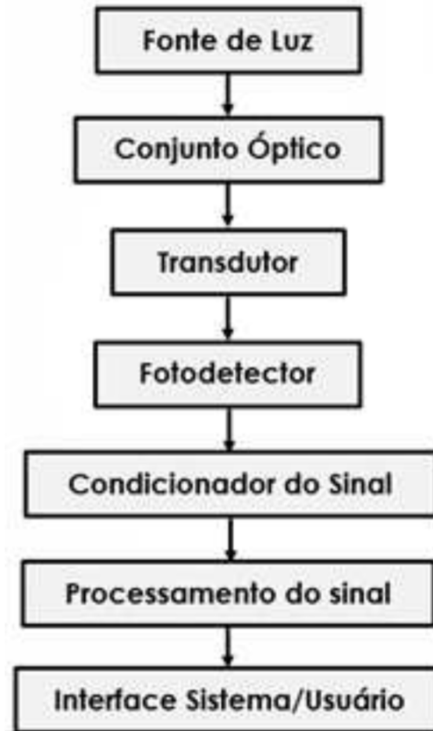
Neste âmbito, destacam-se os biossensores, dispositivos que detectam compostos químicos e biológicos através de reações bioquímicas específicas a substâncias isoladas utilizadas na sua composição (IUPAC, 1997). Essa categoria de sensores é bastante interessante para as condições descritas por possuírem características como alta sensibilidade e seletividade, além de apresentarem tempos de resposta rápidos e precisos (SECCHI, 2017).

Dentre os diferentes tipos de biossensores pode-se, ainda, destacar os biossensores ópticos baseados em ressonância de plasmons de superfície (SPR). Os biossensores SPR funcionam através de mudanças de absorção da radiação eletromagnética em compostos (GASPAR, 2011), monitorando a mudança do índice de refração resultante da interação da ligação de substâncias (OLIVEIRA CATARINA, 2013).

Os biossensores baseados em ressonância de plasmons de superfície são constituídos pelos seguintes elementos: fonte luminosa, conjunto óptico, transdutor,

fotodetector, condicionador de sinal, processamento de sinal e interface do sistema com o usuário (SOUZA FILHO, 2017). A Figura 1 mostra o diagrama de blocos de um desses dispositivos.

Figura 1 - Diagrama de blocos de um biossensor SPR.



Fonte: Souza Filho (2017)

Embora apresentem vantagens como grande especificidade, imunidade a interferências eletromagnéticas e a possibilidade de medições em tempo real sem uso de marcadores, os equipamentos tradicionais utilizados com esta técnica ainda são de grande porte e alto custo. A marca BIACORE, comandada e comercializada pela General Electric, por exemplo, produziu, na década de 90, os primeiros sistemas biossensores comerciais com valores acima de 100 mil dólares, além disso, o preço dos biochips descartáveis custavam próximo de 200 dólares. Hoje em dia esses valores são ainda maiores devido à utilização de tecnologias mais avançadas (SOUZA FILHO; LIMA; NEFF, 2014).

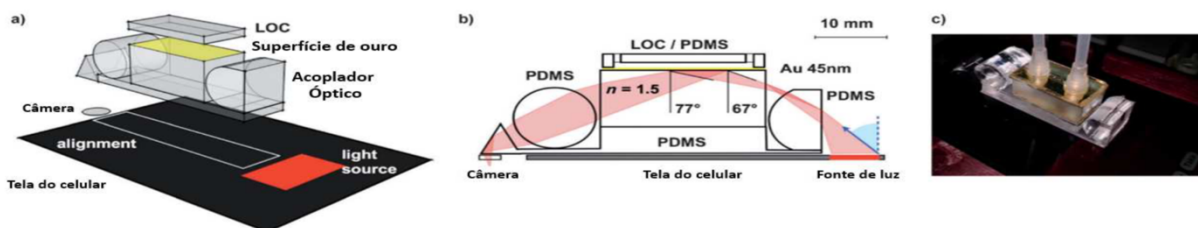
Assim, caracteriza-se a necessidade de sistemas menos complexos e mais acessíveis. Neste cenário, nota-se que o emprego de *smartphones* na construção de um biossensor SPR se torna interessante por apresentarem em sua constituição

diversos dos elementos necessários para o sistema, além de serem dispositivos portáteis e amplamente utilizados nos dias de hoje.

A utilização de *smartphones* oferece fonte luminosa, conjunto aquisitivo de dados (imagens), unidade de processamento de sinais e interface. A fonte de luz pode ser através da própria tela ou dos LEDs utilizados no flash da câmera, enquanto que a aquisição de imagens é feita com a câmera. Já a unidade de processamento de sinais e interface dá-se através do desenvolvimento de aplicativos dedicados, capazes de analisar, interpretar e apresentar os resultados obtidos.

Atualmente desenvolvem-se pesquisas bastante promissoras na construção dos sistemas descritos. O trabalho desenvolvido por Preechaburana et al. (2012) apresenta o primeiro sistema de detecção SPR baseado em *smartphone*, utilizando a plataforma móvel iOS da *Apple*. Utiliza-se um acoplador SPR descartável posicionado temporariamente sobre tela e câmera do celular para a realização da medição. O acoplador condiciona a fonte luminosa da tela e direciona a imagem para a câmera. A Figura 2 apresenta o sistema em questão, na qual, a) modelo tridimensional da plataforma, b) diagrama exibindo o funcionamento da fonte luminosa e câmera e c) imagem do protótipo.

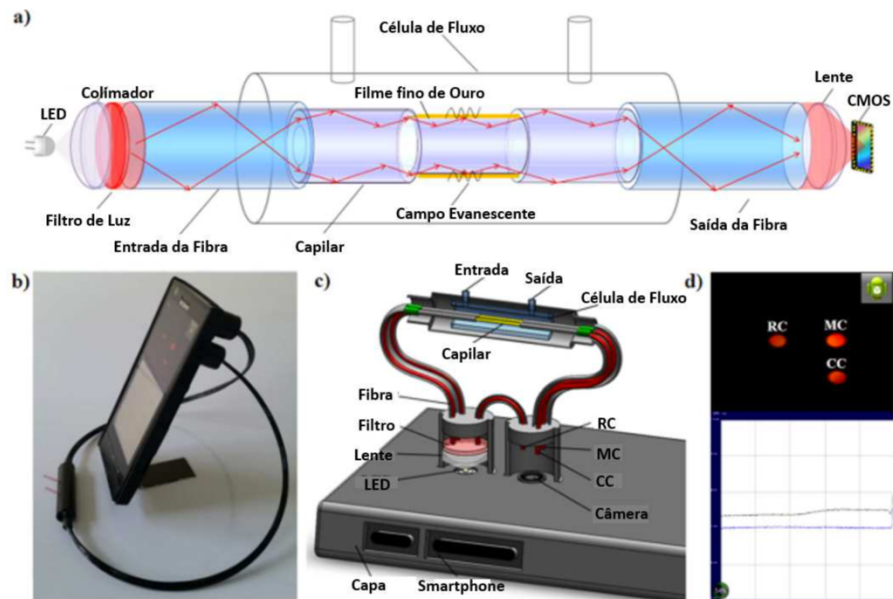
Figura 2 - Sistema proposto por Preechaburana et al. (2012).



Fonte: Preechaburana et al. (2012).

Yun et al. (2015) desenvolveu um biossensor SPR portátil utilizando fibra ótica e um *smartphone*. O conjunto desenvolvido utiliza a luz do flash e a câmera traseira e pode ser utilizado para a detecção de inúmeras substâncias. A Figura 3 apresenta o trabalho, onde (a) ilustração do biossensor SPR proposto, (b) foto do protótipo, c) detalhe em modelo tridimensional da estrutura desenvolvida e (d) aplicativo dedicado em.

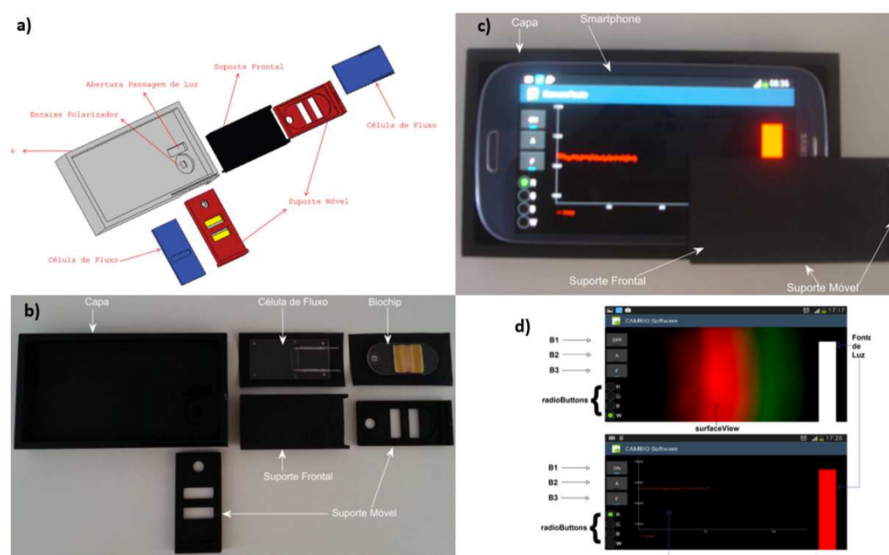
Figura 3 - Trabalho desenvolvido por Yun et al. (2015).



Fonte: Yun et al. (2015).

Na mesma linha, o trabalho desenvolvido por Souza Filho (2017) utiliza uma estrutura em formato de capa, um biochip comercial e um celular *smartphone* para apresentar um biossensor SPR portátil e de baixo custo. A Figura 4 ilustra o sistema, onde, (a) modelo tridimensional da estrutura em formato de capa, (b) foto do modelo produzido, (c) foto do sistema em funcionamento e (d) interface gráfica do aplicativo desenvolvido.

Figura 4 - Trabalho desenvolvido por Souza Filho (2017).



Fonte: Souza Filho (2017).

O trabalho desenvolvido e relatado neste documento teve como premissa o estudo e caracterização da plataforma desenvolvida por Souza Filho (2017), modificando o *software* existente a fins de atualizá-lo para o uso de *smartphones* modernos, e, conseqüentemente, aprimorar sua aquisição de dados.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho é desenvolver o software de uma plataforma baseada em dispositivos portáteis do tipo *smartphone* para atuar como biossensor óptico através do princípio de ressonância de plasmons de superfície. O estudo busca dar continuidade ao projeto de Souza Filho (2017), aprimorando-o e possibilitando o seu uso com dispositivos modernos e de melhores capacidades.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Estudar e contextualizar biossensores e suas aplicações;
- Estudar e compreender o fenômeno de ressonância de plasmons de superfície;
- Desenvolver uma estrutura mecânica para a plataforma;
- Estudar o desenvolvimento de aplicações no sistema “*Android*”;
- Estudar a interface de programação de aplicações “*Camera2*”;
- Desenvolver *software* para o sistema proposto;
- Coletar resultados e validar o sistema desenvolvido.

1.2. ESCOPO

Nesta primeira seção deste trabalho foi apresentada uma breve introdução do tema e da problemática a serem desenvolvidos, além dos objetivos propostos.

A segunda seção aprofunda-se na temática, abordando os conceitos teóricos sobre biossensores, biossensores baseados em Ressonância de Plasmons de Superfície e desenvolvimento de aplicações para dispositivos móveis.

O sistema proposto e desenvolvido é descrito, explicado e demonstrado no terceiro capítulo, dividido em três subseções: estrutura mecânica, software e validação do sistema. Por fim, na quarta seção, apresentam-se as discussões e conclusões finais desenvolvidas durante o estudo e realização do trabalho.

2. REFERÊNCIAL TEÓRICO

Nesta seção serão abordados os referenciais teóricos dos tópicos desenvolvidos neste trabalho.

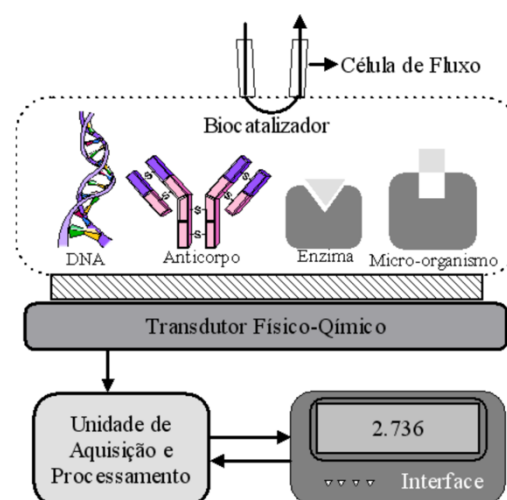
2.1. BIOSSENSORES

A IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) define um biossensor como um dispositivo que utiliza reações bioquímicas específicas medidas por enzimas isoladas, imunossistemas, tecidos, organelas ou células inteiras para detectar compostos químicos, normalmente por meio de sinais elétricos, térmicos ou ópticos (IUPAC, 1997).

A capacidade de detecção de substâncias orgânicas e inorgânicas com alta seletividade sem a necessidade da aplicação de técnicas complexas no processamento de amostras torna estes dispositivos atrativos como ferramentas alternativas em inúmeras aplicações como em análises laboratoriais, aplicações médicas e monitoramento de ambiente (SECCHI, 2017).

A composição de um biossensor pode ser dividida em três elementos principais: biocatalizador, transdutor e unidade de processamento de sinal. A Figura 5 apresenta um esquemático simplificado dessa composição, nela observa-se também a presença de uma célula de fluxo, utilizada para inserir a substância a ser analisada:

Figura 5 - Diagrama de blocos de um biossensor.



Fonte: Souza Filho (2006)

O biocatalizador, também chamado de biorreceptor, é um componente biológico responsável pela seletividade do sensor e funciona reagindo com o composto bioquímico a ser reconhecido na substância analisada, chamado de analito. Esse componente é feito de uma camada composta de elementos ligantes específicos, que agregam a substância a ser detectada. Os elementos biológicos que podem ser utilizados são vastos e vão desde enzimas e anticorpos a organelas e bactérias (MALHOTRA e TURNER, 2003) (ROGERS e MULCHANDANI, 1998).

A reação do elemento biocatalizador ocorre apenas na presença do analito específico para aquele elemento ligante e gera a variação de uma grandeza física ou química. Essa variação pode ser de luz, de calor, de pressão, dentre outras.

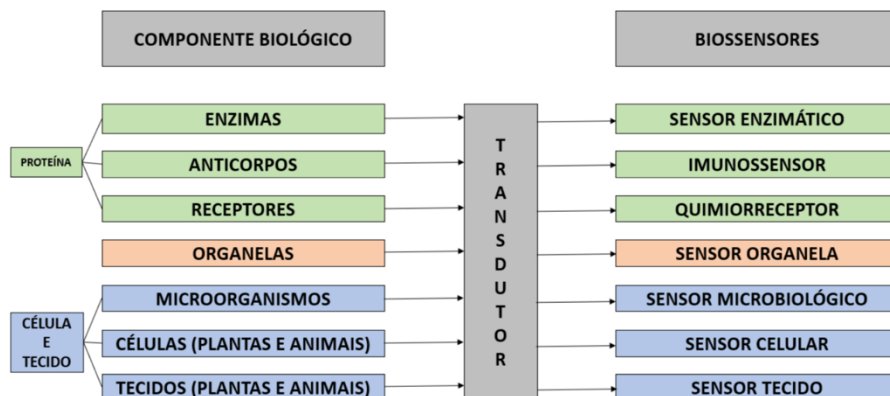
O papel do transdutor físico-químico é converter a variação de grandeza física ou química em um sinal elétrico. Esse sinal elétrico, por fim, passa pela unidade de processamento de sinal que o adquire, converte, processa e disponibiliza os resultados (SOUZA FILHO, 2006).

2.1.1. Tipos de biossensores

Classificam-se os biossensores de acordo com o tipo de seu biocatalizador e quanto à forma de conversão realizada pelo transdutor.

O componente biológico presente no biocatalizador divide os biossensores em classes que apresentam características próprias, esse componente é parte do transdutor. A Figura 6 ilustra a divisão biológica desses dispositivos.

Figura 6 - Classificação biológica dos biossensores.



Fonte: Melo (2008).

Os tipos de biossensores mais desenvolvidos são os das classes: enzimáticas, microbiológicas, quimiorreceptoras e imunossensoras (HOCEVAR, 2011; MELO, 2008). A Tabela 1 apresenta suas características.

Tabela 1 - Características das principais classes de biossensores.

BIOSSENSOR	BIORRECEPTOR	CARACTERÍSTICAS
Enzimático	Enzimas são catalisadores altamente específicos e seletivos as quais são imobilizadas na molécula do substrato	Estabilidade relativamente baixa nas variações das condições do meio reacional
Microbiológico	Microrganismos imobilizados que assimilam compostos orgânicos produzindo uma variação na atividade respiratória ou de metabolitos	Reconhece a espécie de interesse interligada a um adequado sistema de transdução
Quimiorreceptor	Proteínas que interagem com espécies químicas como hormônios, resultando em variações conformacionais	Apresentam problemas relacionados à ligação ao transdutor, dificuldade de manipulação e tempo de vida curto
Imunossensor	Anticorpos que se ligam a substâncias particulares (antígenos) com alta especificidade e alta afinidade	Elevado peso molecular dos anticorpos que dificulta a sua adaptação ao transdutor

Fonte: Hocevar (2011).

Classificando-se quanto ao tipo transdutor, elemento responsável pela conversão do estímulo biológico em sinal elétrico, os tipos de biossensores mais utilizados são os eletroquímicos, ópticos, calorimétricos e piezoelétricos (Calil e Silva 2011). A Tabela 2 apresenta mais detalhes sobre essa classificação.

Tabela 2 - Tipos de transdutores mais utilizados em biossensores.

TRANSDUÇÃO	MEDIDA	CARACTERÍSTICAS
Eletroquímicos	Amperométricos	Baseados na medida da corrente resultante da oxidação ou redução eletroquímica de uma espécie eletroativa
	Potenciométricos	Baseados na determinação da diferença de potencial entre o eletrodo indicador e o de referência ou dois eletrodos de referência separados por uma membrana seletiva permeável
	Condutimétricos	Baseados na medição de mudanças na condutância, devido as reações por enzimas catalisadas
Ópticos	Luminescência	Baseados na medição da luz observada ou emitida como um resultado de uma reação química ou biológica
	Fluorescência	
	Índice de refração	
Piezoelétricos	Massa	Baseados no aumento de massa do cristal que faz com que a frequência de ressonância das oscilações diminua proporcionalmente.
	Ondas acústicas de superfície	
Calorimétricos	Calor	Baseados na detecção de calor envolvido nas reações bioquímicas do analito com uma substância biológica ativa adequada.

Fonte: Calil e Silva (2011).

Os biossensores ópticos funcionam através do monitoramento de propriedades ópticas e são interessantes por apresentarem alta seletividade, alta sensibilidade e tempo de resposta rápido, além de imunidade a interferência eletromagnética (MOREIRA et al., 2010). Pertencentes a essa classe de biossensores, estão os biossensores ópticos de medida de índice de refração, baseados em ressonância de plasmons de superfície (SPR).

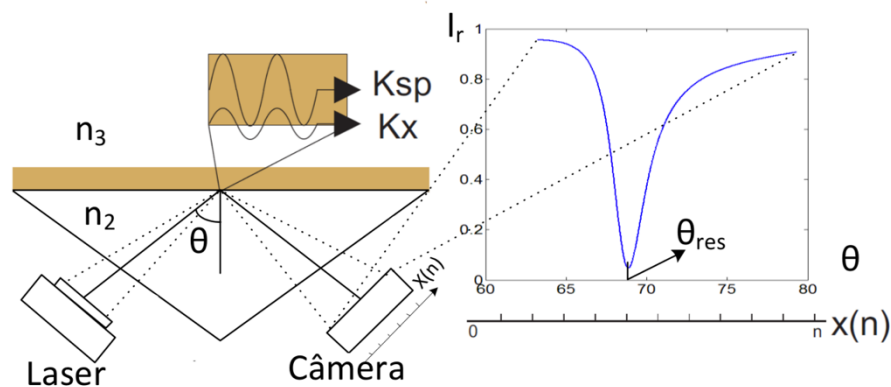
2.2. BIOSSENSORES SPR

Define-se o fenômeno de plasmons de superfície (SP) como uma oscilação de densidade de cargas longitudinal que se propaga ao longo da interface entre um metal e um dielétrico (CARVALHO; RATH; KUBOTA, 2003).

A primeira observação do fenômeno de plasmons de superfície foi feita em 1902 pelo físico Wood ao refletir uma luz policromática por uma superfície metálica. Para certos ângulos de incidência, Wood observou a ausência de componentes no espectro da luz difratada. Na época o físico não conseguiu explicar a causa do fenômeno e apenas considerou a situação observada como anômala (MOREIRA et al., 2010). Apenas anos depois, com contribuições dos estudos de Rayleigh (1941), Fano (1941), Ritchie (1957, 1968), Otto e Kretschmann (1968), entendeu-se com mais detalhes o fenômeno observado (GÓMEZ, 2012).

A Figura 7 ilustra uma aplicação do princípio de ressonância de plasmons de superfície. Observa-se um feixe de luz incidente propagando-se em um meio de índice de refração n_2 . Ao encontrar o meio 3, com menor índice de refração (n_3), a luz é totalmente refletida. Para alcançar essa condição, o ângulo de incidência θ deve ser superior a um ângulo crítico (RAETHER, 1988).

Figura 7 - Fenômeno SPR.



Fonte: Souza Filho (2006)

No ponto de incidência do feixe de luz, parte da radiação penetra no meio 3, criando um campo elétrico de onda evanescente. Se no meio 3, de menor índice de refração, for depositado um filme metálico de espessura adequada, o campo elétrico pode excitar os elétrons livres do metal criando uma onda de plasmons de superfície (SPW) que se propaga ao longo da interface entre o metal e o dielétrico (SOUZA FILHO 2006).

O vetor de onda de plasmons de superfície K_{sp} é dado pela equação 1, e o vetor de onda da componente da luz incidente K_x (componente paralela ao plano de interface metal dielétrico) pode ser encontrado pela equação 2.

$$K_{sp} = \frac{2\pi}{\lambda} \sqrt{\frac{\varepsilon_m \varepsilon_d}{\varepsilon_m + \varepsilon_d}} \quad (1)$$

$$K_x = \frac{2\pi}{\lambda} n_1 \text{sen}(\theta) \quad (2)$$

Onde, λ é o comprimento de onda da luz incidente, ε_m e ε_d são as funções dielétricas do metal e do meio dielétrico e n_1 é o índice de refração do substrato (RAETHER, 1988).

A manutenção da oscilação das cargas longitudinais depende da igualdade entre a componente horizontal do vetor de onda do feixe de luz (K_x) com a parte real do vetor da onda SPW ($Re(K_{sp})$). O ângulo de incidência que torna essa condição possível é denominado de ângulo de ressonância θ_{res} , seu valor depende do índice de refração efetivo do biochip e da espessura da camada superior ao filme metálico, sendo determinado pelo ponto mínimo da curva SPR ilustrada na Figura 7.

O índice de refração efetivo e o ângulo de ressonância podem ser calculados pelas equações 3 e 4, obtidas igualando-se a parte real da equação com a equação 2 (NEFF et al., 2006).

$$n_{eff} = \sqrt{\frac{\varepsilon_{mr}(n_1 \text{sen}(\theta_{res}))^2}{\varepsilon_{mr} - (n_1 \text{sen}(\theta_{res}))^2}} \quad (3)$$

$$\theta_{res} = \arcsen\left(\frac{n_3}{n_1} \sqrt{\frac{\varepsilon_{mr}}{\varepsilon_{mr} + n_3^2}}\right) \quad (4)$$

A intensidade da luz refletida (I_r) pode ser obtida pelo produto da intensidade de luz incidente (I_{in}) pelo coeficiente de reflexão do biochip (R), como mostra equação 5.

$$I_r(\theta) = I_{in}(\theta) * R \quad (5)$$

A obtenção do coeficiente de reflexão do biochip (R) é feita através das equações de Fresnel, representadas na forma matricial pelas equações 6 a 9 (NEFF et al., 2006).

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

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

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

$$\beta_j = \frac{2\pi d_j \sqrt{n_j^2 - [n_1 \sin(\theta_1)]^2}}{\lambda}, q_j = \frac{\sqrt{n_j^2 - [n_1 \sin(\theta_1)]^2}}{n_j^2}.$$

(6 a 9)

A transferência de energia da luz incidente para a onda gerada é verificada como um decaimento na intensidade da luz refletida pelo filme metálico. A excitação da onda de plasmons de superfície pode ser realizada variando-se comprimento de onda (interrogação do comprimento de onda) ou o ângulo de incidência (interrogação angular) do feixe de luz.

Alterações nas características do meio 3 (como uma mudança de substâncias presentes na camada, por exemplo) provocam uma mudança no valor de θ_{res} . É através do monitoramento dessa mudança do ângulo de ressonância que funciona a detecção de substâncias dos biossensores baseados em SPR.

No fim do conjunto ilustrado na Figura 7 tem-se uma câmera, utilizada para detectar a intensidade da luz refletida. De forma simplificada, uma imagem capturada pela câmera é uma matriz RGB onde cada elemento corresponde ao valor do sinal (de 0 a 255) de cada *pixel* X_n do fotodetector. Então, cada ângulo de incidência θ_i corresponde ao sinal de cada *pixel* X_n , a relação entre esses elementos depende da geometria e dimensões do transdutor.

Analisando-se a intensidade da luz refletida através das informações contidas no sinal das imagens é possível formar a curva SPR, e, conseqüentemente, detectar e caracterizar o fenômeno estudado, produzindo um biossensor SPR.

Em condições reais, a distribuição da intensidade do feixe de luz incidido não é uniforme, assemelhando-se a uma curva Gaussiana. Na condição SPR, essa

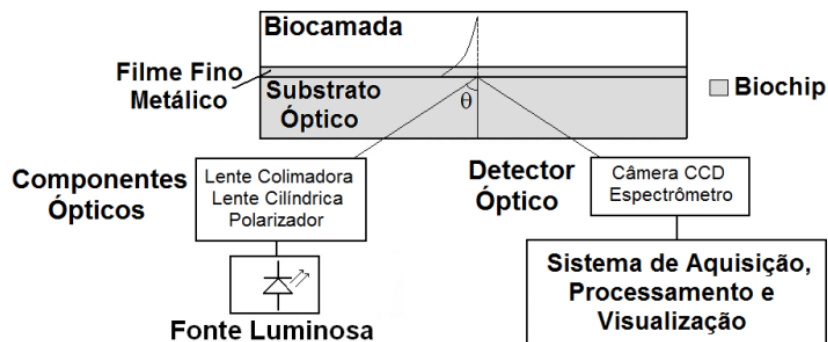
curva Gaussiana de distribuição de intensidade da imagem obtida apresenta mudanças de acordo com as propriedades do meio formado pela camada metálica com o biocatalizador.

O processamento de imagem utilizado para realizar a análise dessas mudanças é feito comparando-se as curvas SPR das imagens adquiridas de diferentes amostras de substâncias no biocatalizador. A curva SPR das amostras é formada através da normalização do sinal da imagem analisada com o sinal de uma imagem de referência, sem substância. Essa normalização é realizada dividindo-se os elementos da matriz referente ao sinal de intensidade da imagem estudada pelos elementos da matriz referente ao sinal de intensidade da imagem de referência, como mostra a equação 10.

$$I_{rn}(\theta) = \frac{I_{rs}(\theta)}{I_{rref}(\theta)} \quad (10)$$

Observa-se que, por assemelham-se a uma distribuição Gaussiana, os valores de intensidade nos extremos das matrizes das imagens obtidas tendem a ser muito pequenos, aproximando-se de zero. Essa situação causa problemas na hora de formar a curva SPR pois amplifica os ruídos nessas regiões quando se realiza a divisão. Utiliza-se, então, uma média do sinal das imagens. Essa operação é realizada por um filtro espacial que calcula a média de N linhas ou colunas acima e abaixo de uma linha ou coluna de referência das matrizes. Uma outra representação dos dispositivos descritos pode ser vista na Figura 8.

Figura 8 - Diagrama de blocos de um biossensor SPR.



Fonte: Moreira et al., 2010.

2.3. DESENVOLVIMENTO ANDROID

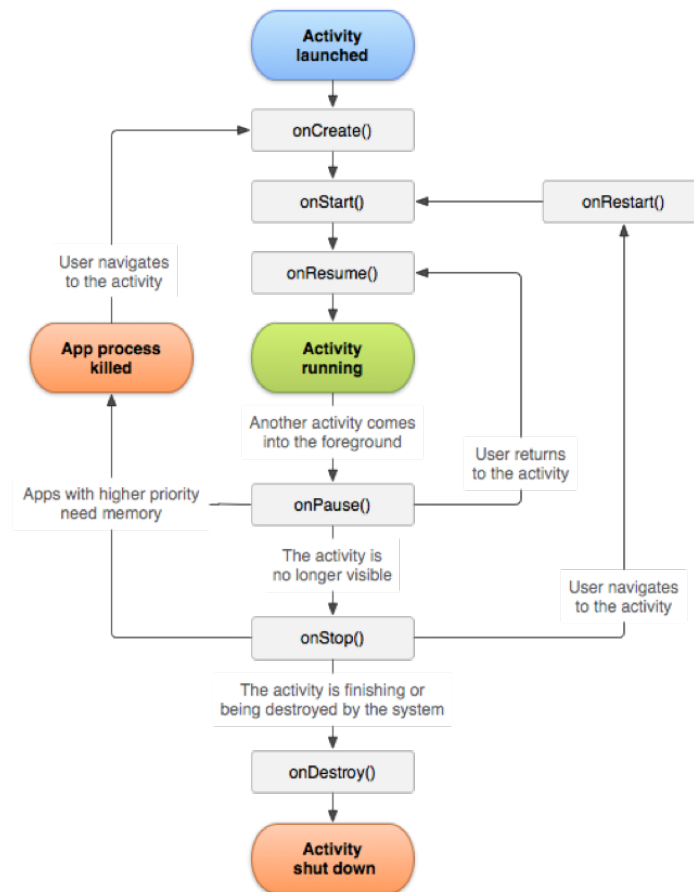
Inicialmente desenvolvido pela *Google*, o *Android* é o sistema operacional mais popular entre dispositivos móveis, em especial smartphones. Baseado no núcleo do sistema operacional de computadores *Linux*, a plataforma tem como característica fundamental o código fonte aberto, caracterizando-o como um software livre (BARROS, 2015).

A plataforma *Android* é um sistema *Linux* multi-usuário, onde cada aplicativo é um usuário diferente. Por padrão o sistema designa um ID único para cada aplicação, esse ID é utilizado para configurar permissões que serão concedidas pelo usuário. Cada processo tem sua própria máquina virtual, de modo que os aplicativos rodam isolados entre si (sandbox). Aplicativos *Android* podem ser escritos usando as linguagens *Kotlin*, *Java* e *C++*. O código é compilado junto com dados e arquivos de recursos em um pacote de aplicação *Android* (APK).

A interação do usuário com a aplicação é feita através das atividades. Num software *Android*, uma atividade representa uma única tela da interface, de modo que um aplicativo normalmente apresenta um conjunto de atividades para formar sua experiência de uso. Cada atividade é independente da outra e pode ser requisitada também por outros aplicativos. Por exemplo, um aplicativo de e-mail possui uma atividade para a caixa de entrada e uma atividade para a composição de e-mails.

O funcionamento através de atividades permite a execução de código sempre que houver mudança no estado do aplicativo. O chamado ciclo de vida das atividades pode ser visto na Figura 9 que exhibe as sete transições de estado: *onCreate*, *onStart*, *onResume*, *onPause*, *onStop*, *onRestart*, *onDestroy*.

Figura 9 - Ciclo de vida das atividades.



Fonte: Android Developer Website.

O método `onCreate` é executado durante a criação da atividade, diferente do método `onStart` que é executado durante sua execução. Caso a atividade seja minimizada ou algum outro aplicativo seja aberto, os métodos `onPause` e `onResume` são utilizados. O método `onStop` é executado quando a atividade deixa de atuar e o método `onDestroy` quando se fecha completamente a aplicação.

2.3.1. Câmera2 API

Em programação, define-se Interface de Programação de Aplicação (API) como um conjunto de rotinas e padrões estabelecidos por um *software* para a utilização das suas funcionalidades por aplicativos que não pretendem envolver-se em detalhes da implementação do software, mas apenas usar seus serviços.

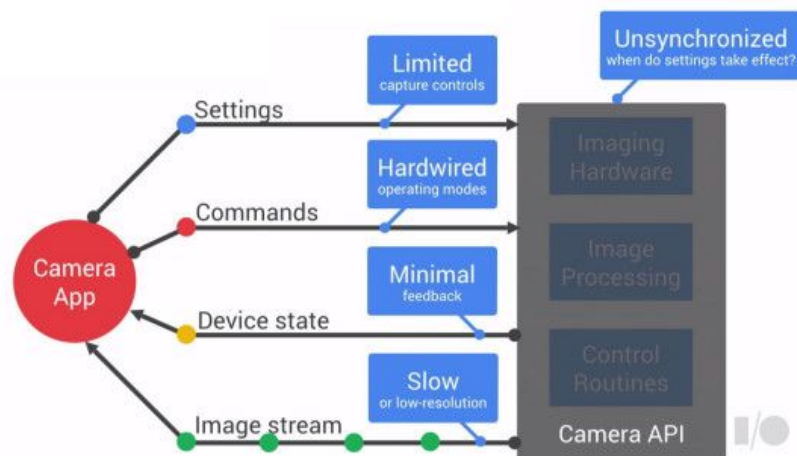
Inicialmente, a opção mais simples para capturar fotos ou gravar vídeos com aplicativos *Android* era utilizando uma chamada de aplicativo de câmera (*intent*). Nesse caso, o aplicativo em uso requisita a função da câmera e a foto é realizada através de um aplicativo dedicado para a câmera. Embora muito simples, essa

opção não permite muita flexibilidade no uso e é mais adequada para aplicativos onde tirar a foto é apenas um acessório e não a função principal.

Lançou-se então a *Camera API* que forneceu muito mais controle em relação ao método anterior. Com a *Camera API* os desenvolvedores puderam desenvolver seus próprios aplicativos para utilizarem diretamente a câmera como quisessem, abrindo espaço para inúmeras possibilidades de aplicativos.

No entanto, à medida em que as aplicações e os aparelhos foram evoluindo, novas exigências começaram a surgir, como a possibilidade de captura de imagens sem compressão (formato RAW) ou velocidades de captura e *preview* mais rápidas, por exemplo. A *Camera API* foi desenvolvida para aplicativos diretos de captura de imagens do tipo *point-and-shoot*, de modo que havia acesso limitado a modos de captura manuais e *streaming* de imagens. Um diagrama de funcionamento dessa API pode ser visto na Figura 10.

Figura 10 - Camera API.

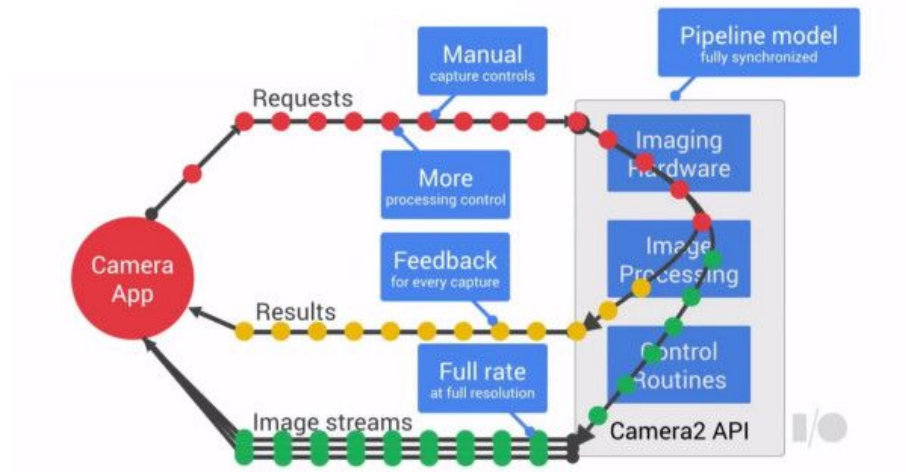


Fonte: Android Developer Website.

A mais nova API designada para a tarefa de adquirir imagens e vídeos é a *Camera2 API*. Desenvolvida como um duto em vez de uma via de mão única, essa API permite a configuração de várias opções de saída independentes para os dados advindos da câmera. Cada uma dessas opções, chamadas de *Surfaces*, podem ser um destino para as imagens, através de requisições à câmera. As requisições contêm as configurações de captura desejadas e são convertidas em um objeto que indica o resultado da operação, além do fluxo de imagens que irá preencher as saídas, *Surfaces*. É possível realizar múltiplas requisições simultaneamente e essas

requisições são tratadas de forma síncrona, ou seja, na ordem em que chegam ao sistema. Uma ilustração da operação dessa API pode ser vista a seguir na Figura 11.

Figura 11 - Camera2 API.



Fonte: Android Developer Website.

Comparando-se a Figura 10 com a Figura 11, observa-se os seguintes avanços da nova API:

- Além de mais modos de captura e processamento, as configurações são enviadas juntas aos comandos em apenas uma requisição;
- Em vez de apenas uma informação do estado do dispositivo, cada requisição gera, além do fluxo de imagens, um objeto de resultados com *feedback* da captura;
- O fluxo de imagens é mais rápido e suporta maiores resoluções;
- A operação das várias requisições é síncrona e independente;

No contexto deste trabalho, configurações manuais de modos de captura como correção de cor, tempo de exposição, compensação de exposição, travamento de tempo exposição, efeitos de cor, foco manual, balanço de cores brancas, correção de hot pixel, calibração de lentes, captura sem compressão (RAW) e muitas outras possibilitam experimentos mais confiáveis e abrem inúmeras possibilidades de melhorias para o sistema.

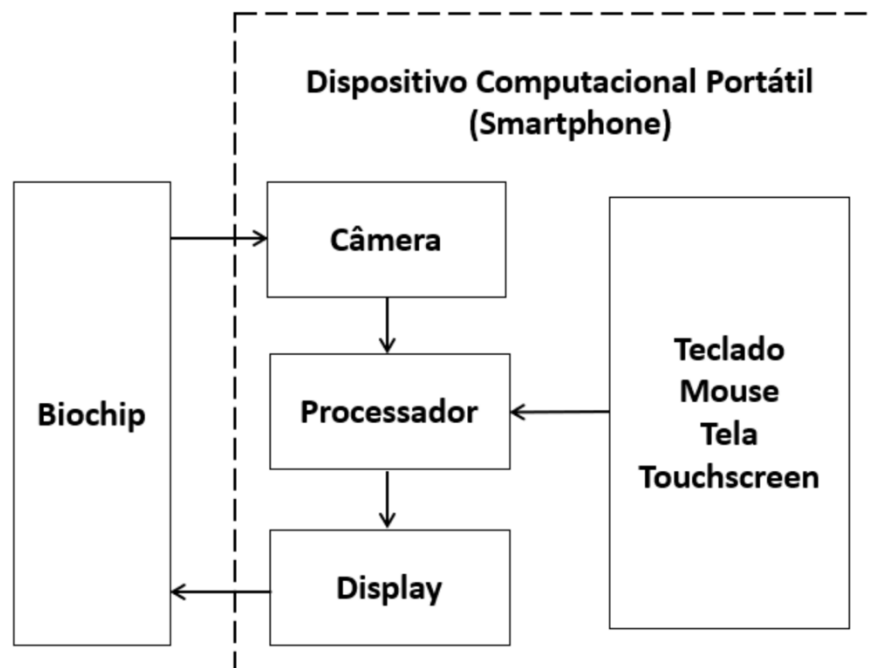
Em resumo, a adoção da API *Camera2* traz inúmeras vantagens para a plataforma estudada. Adicionalmente, a adoção da API *Camera2* é necessária pois a

API antiga já é considerada obsoleta pela plataforma *Android*, o que inviabiliza o seu uso em smartphones modernos.

3. DESCRIÇÃO DO SISTEMA

Os biossensores SPR propostos necessitam de uma fonte de luz e um elemento fotodetector, ambos disponíveis em dispositivos portáteis *smartphones*. No sistema proposto, a fonte de luz vem da própria tela do dispositivo e o elemento detector é sua câmera frontal. Alternativamente, pode-se utilizar a câmera traseira e seu *flash* como fonte luminosa. A Figura 12 ilustra a arquitetura desenvolvida.

Figura 12 - Arquitetura do sistema desenvolvido.



Fonte: Souza Filho (2017).

Desenvolvendo-se um software para o sistema, o uso de *smartphones* como dispositivos portáteis também possibilita a implementação de interface para o usuário e processamento de dados.

O sistema desenvolvido para o uso de biossensores com dispositivos portáteis consistiu então de uma estrutura mecânica e um aplicativo para *smartphone*. A estrutura mecânica tem como função acomodar e alinhar a câmera e a fonte de luz com o *biochip*, enquanto que o *software* realiza a aquisição e processamento de dados, além de funcionar como interface entre o sistema e o usuário.

3.1. ESTRUTURA MECÂNICA

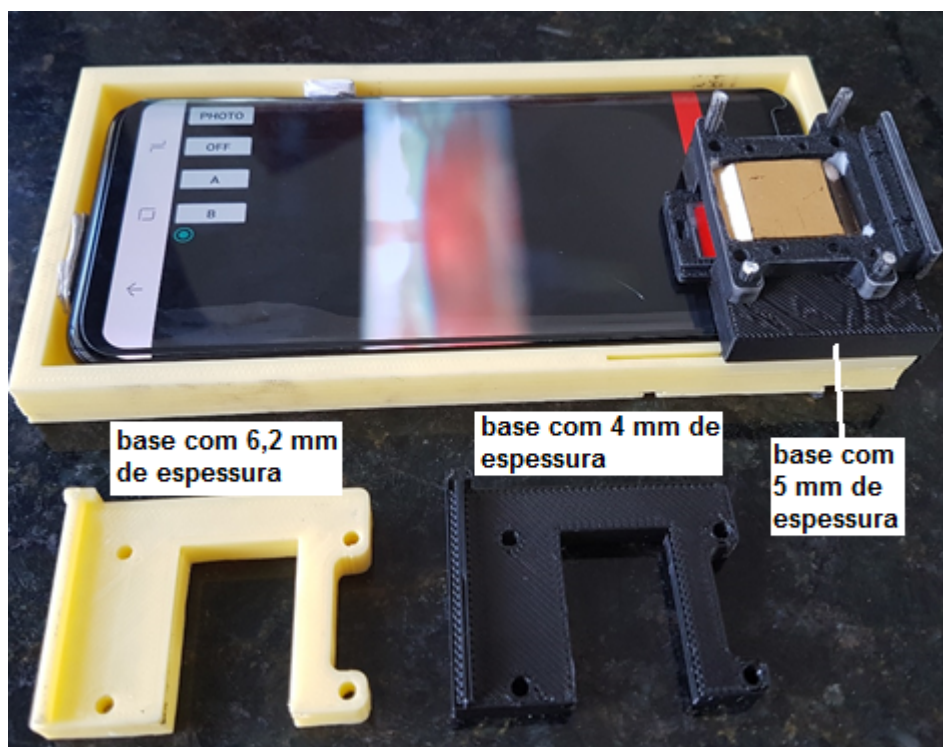
Seguindo os modelos referenciados e bem-sucedidos, buscou-se confeccionar uma estrutura em formato de capa, utilizando uma impressora 3D, para acomodar um smartphone e um *biochip*.

A fim de alinhar a câmera e iluminação provenientes do smartphone com o *biochip*, a estrutura mecânica precisa ser construída seguindo dimensões específicas, de acordo com o modelo do *smartphone* e do *biochip* utilizados, ou oferecer espaço para ajustes nas posições dos componentes.

Para este trabalho, produziu-se um protótipo com dimensões adequadas para o *smartphone Samsung Galaxy Note 9* e para *biochip* da PBBIO. Embora o *smartphone* utilizado não seja exatamente um dispositivo de baixo custo, nota-se que trabalhos como o de Souza Filho (2006) foram bem-sucedidos utilizando dispositivos antigos e de menores capacidade. Atualmente todos os *smartphones* do mercado possuem hardware suficiente para a realização do problema proposto.

O encaixe do *biochip* foi projetado com uma fenda que permite ajuste quanto a sua posição. O protótipo desenvolvido pode ser visto na Figura 13.

Figura 13 - Estrutura mecânica desenvolvida.



Fonte: Autoria própria.

Observa-se na figura a estrutura em formato de capa que abriga o *smartphone* e três bases com espessuras diferentes. As bases têm como função acomodar uma lente óptica e o *biochip* (presente na base com 5 mm de espessura). A confecção de três bases com diferentes espessuras possibilita diferentes configurações de distância focal entre o *biochip* e a lente.

A estrutura desenvolvida é de fácil manuseio, baixa complexidade e baixo custo. Além disso, seu caráter modular permite fácil substituição e manutenção dos componentes, possibilitando o uso de diferentes tipos de *biochips*.

3.2. SOFTWARE

O desenvolvimento da aplicação para o sistema operacional *Android* utilizou a linguagem *Java* e teve como principal objetivo utilizar os métodos e qualidades oferecidas nas versões mais novas do sistema, dando continuidade ao modelo de estudo já introduzido.

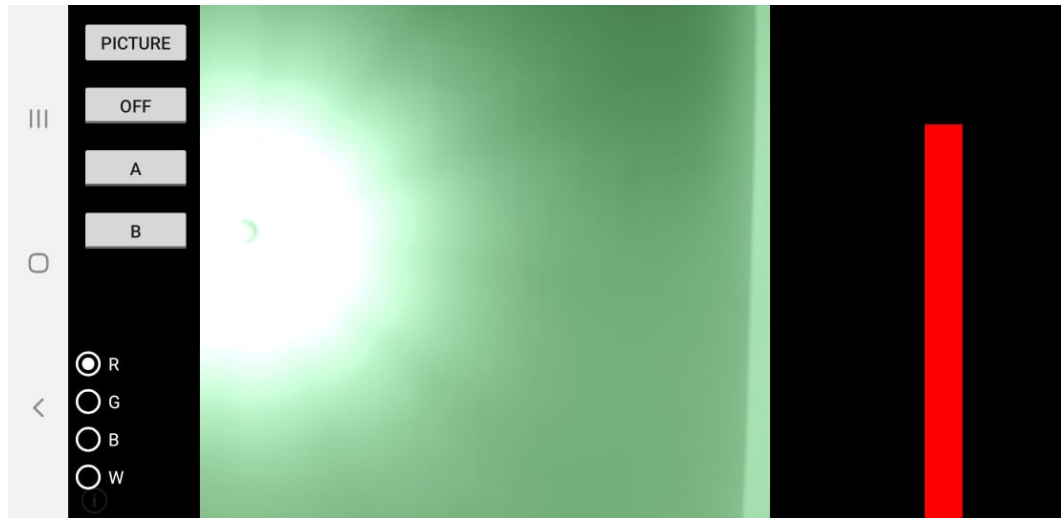
Essa atualização de *software* possibilita o uso das capacidades e características de *smartphones* modernos, como menores intervalos de aquisição de imagens e maior flexibilidade nas configurações de captura.

Por ser uma plataforma aberta, o sistema *Android* permite que o aplicativo desenvolvido funcione em diversos dispositivos, até mesmo de fabricantes diferentes.

3.2.1. Interface

O leiaute desenvolvido para a aplicação pode ser visto na Figura 14, obtida diretamente do *smartphone* durante operação. Nele é possível observar os botões de comando à esquerda, a área de pré-visualização da câmera e o retângulo de luz que funciona como fonte luminosa para o *biochip*.

Figura 14 - Leiaute do software desenvolvido.



Fonte: Autoria própria.

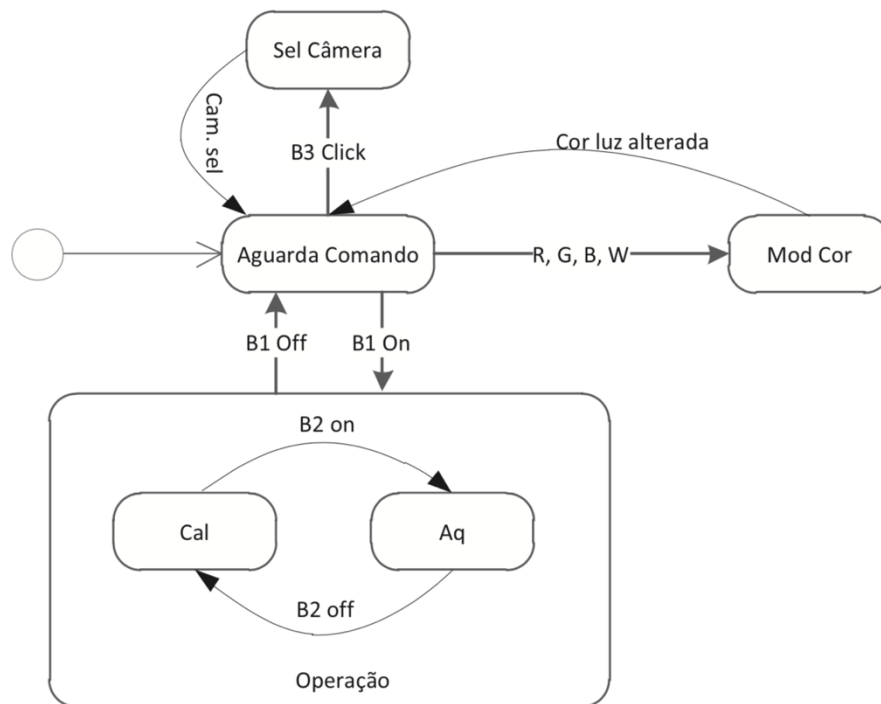
Os botões “*Picture*” e “*Off*” controlam o estado de operação do sistema, enquanto que os botões A e B, respectivamente, o modo de operação e qual câmera será usada. Os elementos do tipo *radioButton* localizados logo abaixo selecionam a cor de preenchimento do retângulo utilizado como fonte de luz, oferecendo ao usuário a opção de utilizar a luz branca (W) ou as três componentes primárias: vermelho (R), verde (G) ou azul (B). A escolha dessas três cores é justificada pela composição moderna de displays e câmeras, essas peças possuem um *pixel* de cada cor para display ou captura.

3.2.2. Funcionalidade

As principais funcionalidades da aplicação desenvolvida são a geração da imagem que proporciona a fonte de luz na cor desejada, o controle da aquisição da imagem refletida e o armazenamento dessa imagem. Posteriormente pretende-se ampliar essas funções para que o *software* realize também o processamento das informações e a exibição dos valores calculados na tela para visualização do usuário, completando o sistema biossensor SPR.

Ao iniciar o aplicativo ele entra em um estado Aguarda Comando, onde apenas apresenta na região central da tela a pré-visualização da imagem captada pela câmera, o que permite um possível ajuste na posição do *biochip* e verificação do sinal obtido. Nesse estado, é possível iniciar a aquisição de dados, alterar câmera em uso, realizar a calibração ou selecionar a cor da luz gerada na tela do dispositivo. Um diagrama de estados para a aplicação pode ser visto na Figura 15.

Figura 15 - Diagrama de estados do software desenvolvido.



Fonte: Souza Filho (2006).

A aquisição das imagens é controlada pelo um botão de início “*Picture*” e um de parada “*Off*”. Uma vez iniciada a operação, um *timer* é ativado, capturando automaticamente as imagens e salvando-as de forma sequencial no dispositivo. Inicialmente buscou-se apenas validar o funcionamento do software, de modo que o tempo de intervalo do *timer* foi ajustado em um valor conservador de 700 ms. Essa escolha foi feita para facilitar a posterior validação dos resultados, devido ao menor número de imagens para processar. Em testes, no entanto, observou-se o bom funcionamento com intervalos ainda menores, possibilitando uma boa margem de melhoria nesse quesito.

A fins de comparação, o *software* anterior era limitado a 1,2 s. A operação de aquisição das imagens continua até que seja pressionado o botão “*Off*”. Esse tempo de aquisição é relevante para casos onde a plataforma realiza uma análise contínua do fluxo de substância no biochip. No momento o sistema desenvolvido ainda não possui tais funcionalidades.

O botão “B” realiza a troca da câmera em uso. Para a utilização da câmera traseira, o sinal luminoso para o *biochip* é gerado com o flash do smartphone. Neste trabalho focou-se no uso da câmera frontal.

Os próximos passos do projeto objetivam também o processamento dos dados e exibição dos resultados em tempo real no centro da tela, ocupando o local da pré-visualização da câmera. No entanto, a pré-visualização da câmera é importante para a calibração de posição do *biochip*. Através do botão “A”, propôs-se, então, dois modos para o aplicativo: o de calibração e o de aquisição.

Os botões restantes têm como objetivo selecionar a cor do preenchimento da imagem gerada como sinal luminoso, oferecendo as cores branca (W), vermelha (R), verde (G) e azul (B).

O modelo desenvolvido se propôs a atualizar o sistema existente, introduzido anteriormente, focando-se na classe *Camera*, a fim de utilizar as funcionalidades de dispositivos modernos. A Figura 16 ilustra o diagrama de classes do aplicativo existente, destaque para a classe “*Camera*” a ser modificada.

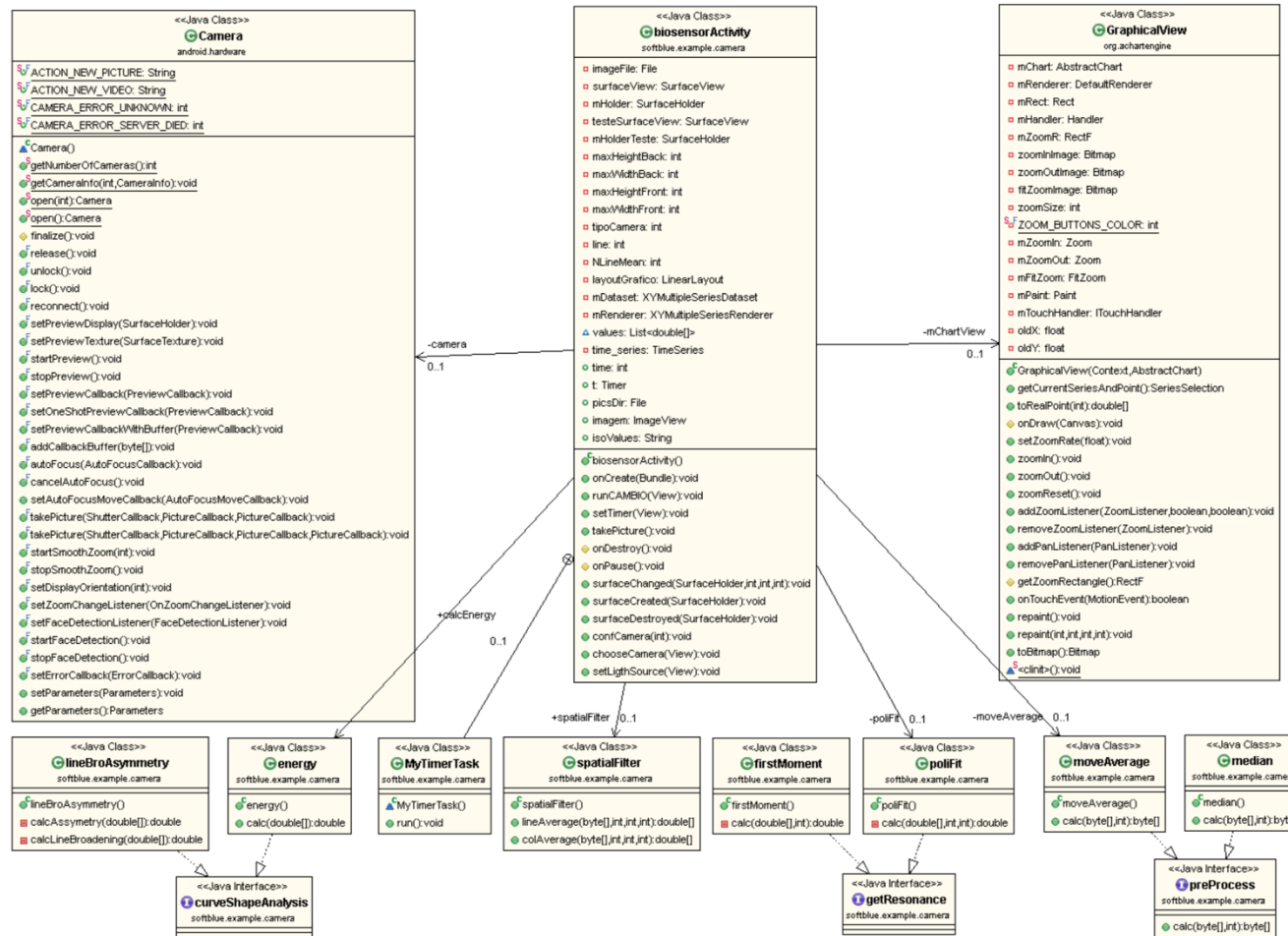
O aplicativo existente contém apenas uma atividade que oferece todas as funções do programa através da classe *biosensorActivity*. A aquisição da imagem é feita através de um objeto da antiga classe *Camera*, utilizando o método *takePicture* implementado na classe principal *biosensorActivity*. O método *chooseCamera* permite a escolha da câmera do dispositivo a ser utilizada. A escolha da cor da fonte luminosa gerada é feita através do método *setLightSource*.

As classes *firstMoment* e *poliFit* são responsáveis por detectar a condição de ressonância, enquanto que as classes *moveAverage* e *median* realizam uma suavização do sinal aplicando filtros de média móvel e mediana. As classes derivadas de *curveShapeAnalysis* calculam os parâmetros das formas de curva para a detecção SPR. O filtro espacial foi implementado na classe *spatialFilter* que recebe a imagem adquirida pela câmera e retorna um vetor com sinal correspondente à média N linhas ou colunas da imagem captada (SOUZA FILHO, 2017).

A classe *GraphicalView*, da biblioteca *AChartEngine*, é responsável por exibir na tela, em forma de gráfico, os valores obtidos com o processamento das imagens adquiridas. Por ora, o escopo deste trabalho limitou-se apenas em adquirir de forma correta as imagens, no entanto, foi realizado um teste preliminar com a biblioteca *AChartEngine* para garantir sua compatibilidade com os sistemas operacionais mais novos. Os testes foram realizados introduzindo números aleatórios para serem

plotados na tela do smartphone e foram bem-sucedidos, garantindo a viabilidade dos próximos passos do projeto.

Figura 16 - Diagrama de classes do aplicativo existente.



Fonte: Souza Filho (2017).

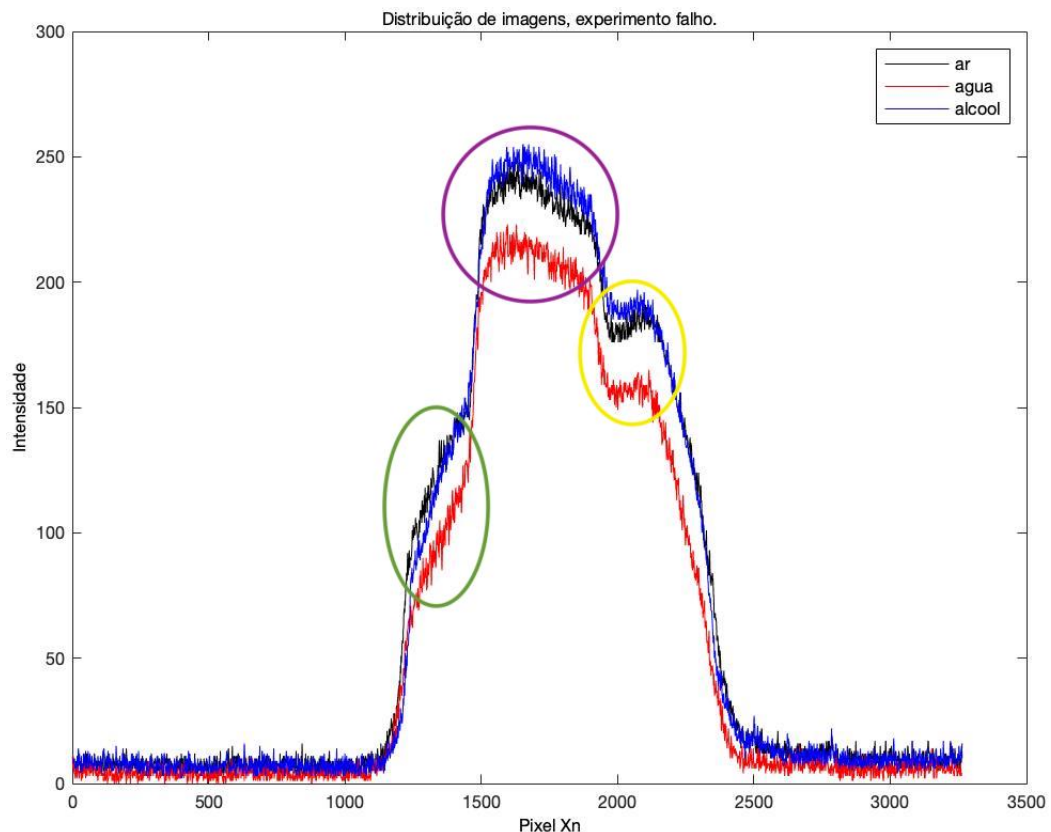
3.2.3. Modos de captura

A nova API da câmera introduz uma grande flexibilidade nos modos de captura de imagem, disponibilizando funções como ajuste de foco, luminosidade, equilíbrio de cores, dentre outras. Em aplicações usuais é comum deixar a configuração desses ajustes a cargo do software que de forma automática consegue escolher a melhor opção para cada cenário.

O problema proposto, no entanto, depende principalmente da comparação entre as imagens obtidas, de modo que uma inconsistência na captura de imagens introduziria variáveis extras que inviabilizariam o sistema. Essa situação foi observada durante a realização de experimentos, onde o mesmo conjunto de *biochip*, fonte luminosa e fotodetector produz resultados discrepantes.

A Figura 17 mostra um gráfico contendo a distribuição do sinal de três imagens correspondentes a experimentos realizados com três substâncias diferentes, durante a validação do sistema. Os dados foram obtidos através de um processamento externo das imagens salvas pelo software desenvolvido.

Figura 17 - Experimento falho.



Fonte: Autoria própria.

Observa-se na região central uma variação anormal do valor de intensidade das curvas referentes aos sinais de imagens. A variação destacada em verde é normal e esperada, ela representa a energia utilizada para manter as ondas de superfície de plasmons do efeito SPR nas diferentes substâncias. A região destacada em roxo, no entanto, representa uma mudança acentuada de intensidade entre as curvas; com exceção da radiação absorvida pelo efeito SPR, deveria haver a reflexão total nas três substâncias, de modo que as três curvas deveriam estar bem próximas.

A diferença de intensidade do sinal referente à água, em vermelho, indica alguma inconsistência na captura da imagem. A mudança de distribuição destacada em amarelo é proveniente de uma alguma particularidade da fonte de luz, do conjunto óptico, da câmera ou até mesmo da substância e não representa problema, uma vez que é constante entre os experimentos.

Identificou-se o uso do *flash*, de foco automático e de controle automático de exposição como causas para as inconsistências do resultado. Essas configurações foram realizadas manualmente no aplicativo através dos métodos disponíveis na API *Camera2*: desabilitou-se o *flash* e os controles automáticos e ajustou-se manualmente e de forma empírica os valores de tempo de exposição e distância focal.

A possibilidade de não operar de forma automática e permitir ajuste desses e inúmeros outros parâmetros é mais uma vantagem da aplicação, agregando ao usuário maior flexibilidade na realização dos experimentos.

3.3. VALIDAÇÃO DO SISTEMA

Como parte imprescindível para a continuidade do desenvolvimento e posteriores melhorias do sistema desenvolvido, realizou-se experimentos para a validação da plataforma através de resultados empíricos.

3.3.1. PROCEDIMENTO

Observa-se que a estrutura mecânica exibida na Figura 13 não apresenta a célula de fluxo, exemplificada na Figura 5. O papel da célula de fluxo é inserir a substância a ser analisada no biossensor, fazendo-a passar pelo biocatalizador. Até a confecção deste documento, uma célula de fluxo ainda não havia sido construída

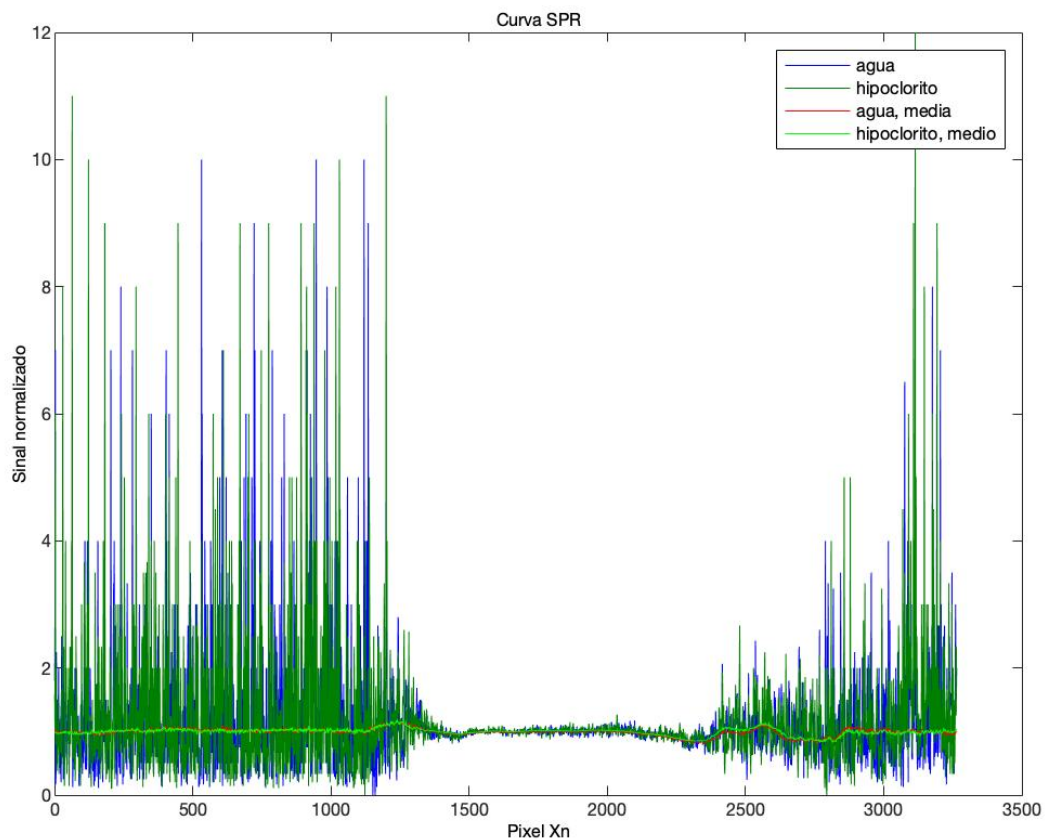
para o protótipo, de modo que o procedimento experimental para a validação do sistema consistiu do posicionamento manual das amostras a serem analisadas. Para isso, as substâncias foram aplicadas em pequenos pedaços de papel e posicionadas no *biochip* para a aquisição das imagens.

As imagens dos experimentos salvas no smartphone foram transferidas para um computador onde foram processadas e analisadas para gerar os resultados. Esse processamento foi realizado utilizando os sinais das imagens em formato de matriz, como descrito na seção 2.2.

3.3.2. RESULTADOS

Realizou-se um experimento aplicando as substâncias água e hipoclorito no biochip. As imagens foram obtidas pela câmera utilizando o aplicativo desenvolvido. Os dados das imagens foram processados no computador e o resultado pode ser visto na Figura 18.

Figura 18 - Curvas SPR do experimento de validação do sistema.

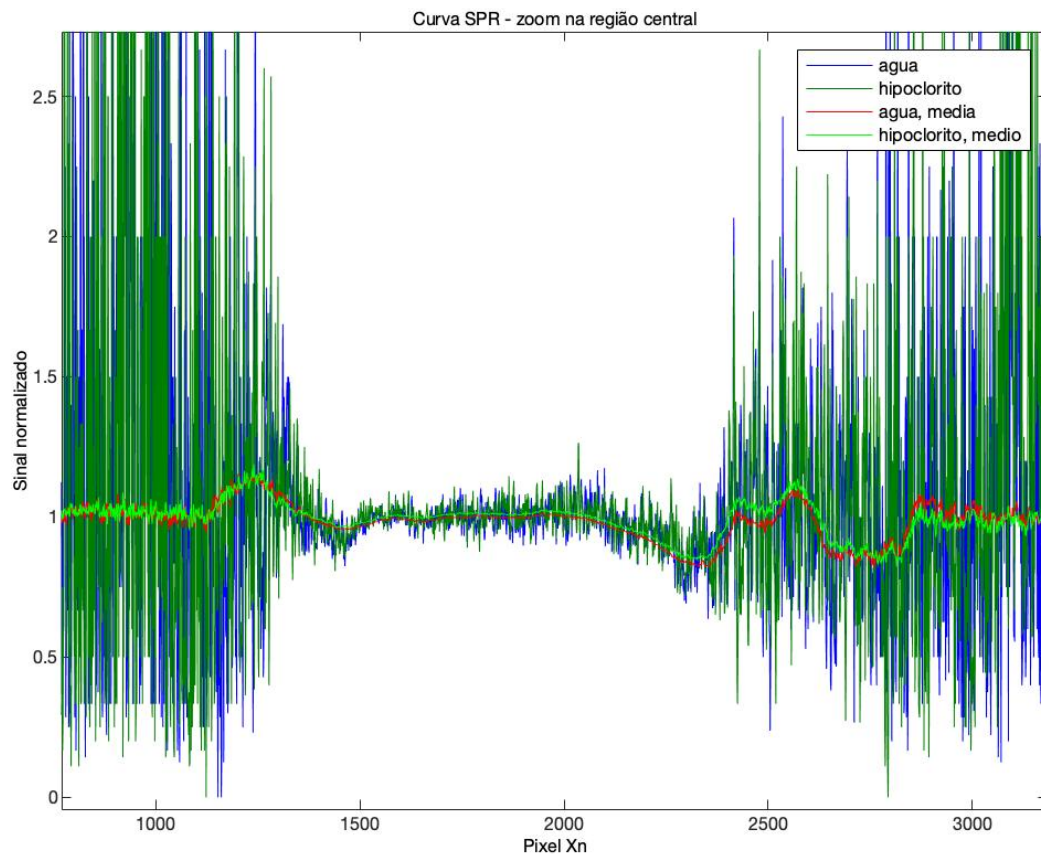


Fonte: Autoria própria.

O gráfico mostra a importância do cálculo da média dos sinais através do uso do filtro espacial. Como já explicado, a divisão dos sinais estudados pelos sinais de referência, realizada para produzir a curva SPR causa os picos observados no gráfico pelos sinais sem média das substâncias.

Um *zoom* na parte central do gráfico é mostrado na Figura 19. Embora a ocorrência do ruído observado anteriormente seja bem menor, ainda se observa que o sinal médio é consideravelmente mais limpo, justificando mais uma vez o uso do filtro.

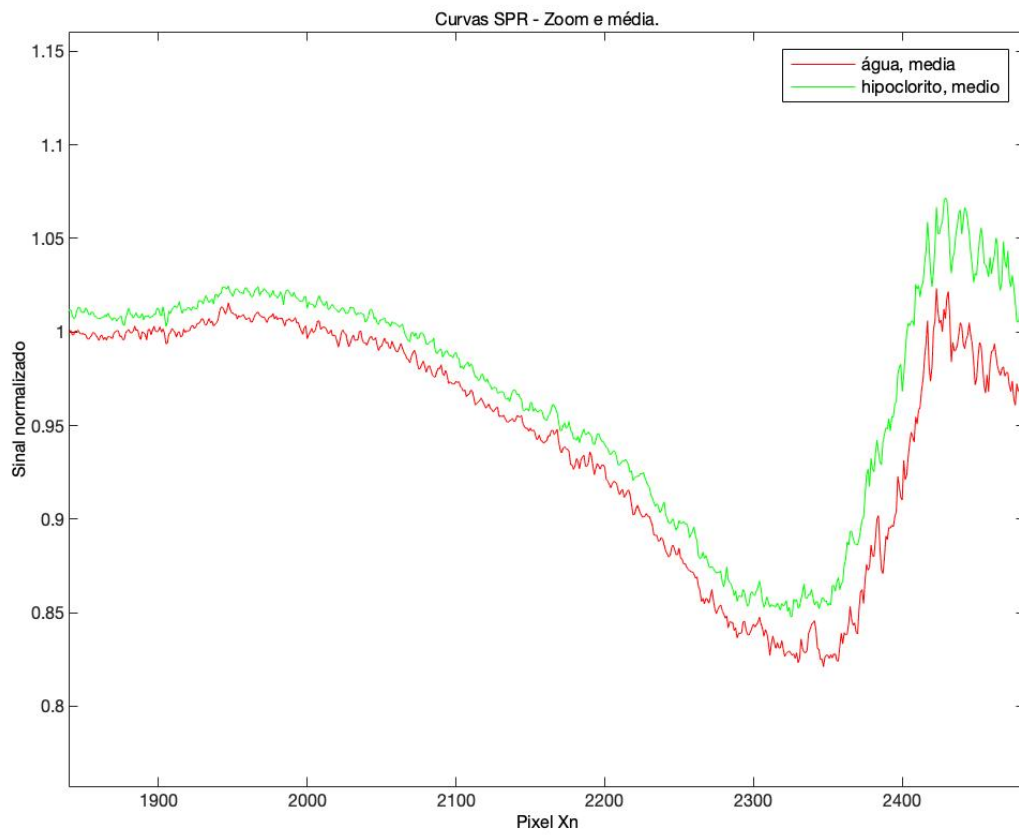
Figura 19 - Zoom na região central das curvas SPR.



Fonte: Autoria própria.

Por fim, a Figura 20 apresenta um *zoom* da região central apenas com as curvas SPR referentes às médias dos sinais. Observa-se que as curvas se assemelham à representação da Figura 7. O deslocamento visível das curvas deixa evidente a diferença entre substâncias, comprovando a validade da plataforma produzida.

Figura 20 - Curvas SPR do experimento realizado.



Fonte: Autoria própria.

4. CONCLUSÕES

Estudou-se e compreendeu-se os biossensores e o princípio de ressonância de plasmons de superfície, desenvolveu-se uma estrutura mecânica e um software atualizado dedicado para plataforma proposta. Por fim, coletou-se dados experimentais e validou-se o sistema desenvolvido.

No contexto mundial onde a maioria das pessoas possui um dispositivo computacional portátil em seu bolso, a possibilidade de atender às motivações apresentadas através do desenvolvimento de plataformas de detecção e sensoriamento acessíveis e precisas, mostra quão promissor é o campo dos biossensores, em especial dos biossensores ópticos baseados em ressonância de plasmons de superfície.

Os trabalhos estudados e o trabalho desenvolvido utilizaram do princípio SPR para implementar dispositivos biossensores bem-sucedidos, apresentando resultados que comprovam sua funcionalidade. Além disso, o desenvolvimento de software *Android* utilizando a API *Camera2* mostrou-se propício para a tarefa abordada. As inúmeras outras possibilidades de ajustes e modos de captura (em especial a captura sem compressão, utilizando o formato RAW) mencionadas configuram-se como futuras possibilidades de aprimoramento do sistema desenvolvido, já definindo os possíveis próximos passos do projeto. A realização do processamento e exibição dos resultados no próprio *smartphone* também é um objetivo futuro do trabalho.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROS, Thiago. Conheça o Android, o sistema operacional móvel do Google. T ech tudo. 2015. Disponível em: <<http://www.techtudo.com.br/tudo-sobre/android.html>>. Acesso em: 8 maio 2018.

CALIL, Simone Saad; SILVA, Paulo Roberto Queiroz. Biossensores: estrutura, funcionamento e aplicabilidade. 2011. 6a Mostra de Produção Científica da Pós-Graduação Lato Sensu da PUC Goiás. Disponível em: <http://www.cpgls.pucgoias.edu.br/6mostra/artigos/SAUDE/SIMONE_SAAD_CALIL_PAULO_ROBERTO_QUEIROZ.pdf>. Acesso em: 8 maio 2019.

CARVALHO, Rosangela M.; RATH, Susanne; KUBOTA, Lauro T. SPR: Uma nova ferramenta para biossensores. Química Nova, v. 26, n. 1, p.97-104, jan. 2003. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422003000100017>>. Acesso em: 8 maio 2019.

GASPAR, César. Tipos de Biossensores: Ópticos. Biossensores_FL. 2011. Disponível em: <<https://sites.google.com/site/biossensoresfl/tipos-de-biossensores/opticos>>. Acesso em: 6 maio 2019.

GÓMEZ, David Regatos. Biossensores Ópticos de Alta Sensibilidad Basados en Técnicas de Modulación Plasmónica. Orientador: Borja Sepúlveda Martínez. 2012. 206 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Física, Universidad de Santiago de Compostela, Bellaterra, Barcelona, 2012.

HOCEVAR, Marcele Arais. Desenvolvimento de Biossensores Enzimáticos Amperométricos utilizando Nanopartículas de Polipirrol. Orientador: Carlos Arthur Ferreira. 2011. 114 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre - RS, 2011.

IUPAC. Gold Book: Biosensor. 1992. Disponível em: <<https://goldbook.iupac.org/html/B/B00663.html>>. Acesso em: 6 maio 2019.

MALHOTRA, B. D.; TURNER, A. P. F. Advances in Biosensors: Perspectives in Biosensors. Amsterdam: Elsevier Science, 2003.

MELO, Ariana Farias. Desenvolvimento preliminar de um biossensor enzimático para determinação de taninos hidrolisáveis. Orientador: Andréa Medeiros Salgado. 2008. 127 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, 2008.

MOREIRA, Cleumar Silva et al. Biossensores: Tecnologia e Aplicações. 2010. 18 f. Disponível em: <<http://www.biologia.seed.pr.gov.br/arquivos/File/biotecnologia/biossensores.pdf>>. Acesso em: 8 maio 2019.

OLIVEIRA, Catarina Peres. Desenvolvimento de uma camada de reconhecimento biológico de ligação universal para utilização em imunoenaios. Orientador: Maria Norberta Correia de Pinho. 2013. 81 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós-graduação em Engenharia Química, Técnico Lisboa, Portugal, 2013.

PREECHABURANA, Pakorn et al. Surface Plasmon Resonance Chemical Sensing on Cell Phones. *Sensors*, p. 11753–11756, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/ange.201206804>>. Acesso em: 6 maio 2019.

RAETHER, H. Surface Plasmons on Smooth and Rough Surfaces and on Gratings. Berlin: Springer-Verlag, 1988.

ROGERS, K. R.; MULCHANDANI, A. Affinity Biosensors: Techniques and Protocols. Totowa, New Jersey: Humana Press, 1998.

SECCHI, Sabrina Garcia. Modelagem, análise e otimização de biossensores eletroquímicos baseados em enzimas. Orientador: Tito Lívio Moitinho Alves. 2017. 126 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-graduação e Pesquisa de Engenharia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, 2017.

SOUZA FILHO, Carlos Alberto. Contribuição ao Projeto de Sistemas Multianalíticos Baseados em Ressonância de Plásmos de Superfície. Orientador: Antônio Marcus Nogueira Lima. 2017. 166 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande - PB, 2017.

SOUZA FILHO, Carlos Alberto; LIMA, Antonio M.n.; NEFF, H. Smartphone based, portable optical biosensor utilizing surface plasmon resonance. 2014 IEEE International Instrumentation And Measurement Technology Conference (i2mtc) Proceedings, p.890-895, maio 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1109/I2MTC.2014.6860870>>. Acesso em: 7 maio 2019.

SOUZA FILHO, Carlos Alberto. Desenvolvimento de um Sistema Eletrônico de Aquisição e Processamento para Biosensores. Orientador: Antônio Marcus Nogueira Lima. 2006. Tese (Mestrado) - Curso de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande - PB, 2006.

YUN, Liu et al. Surface plasmon resonance biosensor based on smart phone platforms. Scientific Reports, vol. 6, p. 1–9, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/srep12864>>. Acesso em: 7 maio 2019.