



Universidade Federal de Campina Grande - UFCG

Centro de Engenharia Elétrica e Informática - CEEI

Curso de Graduação em Engenharia Elétrica - CGEE

TIAGO ABREU TAVARES DE SOUSA

**SISTEMA DE AQUISIÇÃO DE DADOS E CONTROLE
PARA BIO-SENSORES ÓPTICOS**

Campina Grande, Paraíba
Março de 2011

TIAGO ABREU TAVARES DE SOUSA

SISTEMA DE AQUISIÇÃO DE DADOS E CONTROLE PARA BIO- SENSORES ÓPTICOS

*Relatório de Estágio Supervisionado submetido
à Coordenadoria do Curso de Graduação em
Engenharia Elétrica da Universidade Federal
de Campina Grande como parte dos requisitos
necessários para a obtenção do grau de
Bacharel em Ciências no Domínio da
Engenharia Elétrica.*

Área de Concentração: Processamento de Informação

Orientador:

Professor Dr. Antonio Marcus Nogueira Lima.

Campina Grande, Paraíba
Dezembro 2010 - Março de 2011

TIAGO ABREU TAVARES DE SOUSA

SISTEMA DE AQUISIÇÃO DE DADOS E CONTROLE PARA BIO- SENSORES ÓPTICOS

Relatório de Estágio Supervisionado submetido à
Coordenadoria do Curso de Graduação em Engenharia
Elétrica da Universidade Federal de Campina Grande
como parte dos requisitos necessários para a obtenção do
grau de Bacharel em Ciências no Domínio da Engenharia
Elétrica.

Área de Concentração: Processamento de Informação

Aprovado em / /

Professor Avaliador
Universidade Federal de Campina Grande
Avaliador

Professor Dr. Antonio Marcus Nogueira Lima
Universidade Federal de Campina Grande
Orientador, UFCG

Dedico este trabalho à Deus e minha família,
pai, mãe e irmãos, que sempre torceram por
mim, apoiando e oferecendo tudo que precisei.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, em primeiro lugar, por todas as graças que recebo e sempre recebi, mesmo não sendo merecedor.

Agradeço também à minha mãe, Maria Auxiliadora, e a meu pai, José Tavares, exemplos e motivações para todo meu esforço em alcançar o sucesso, sempre com hora e honestidade.

Agradeço também aos meus irmãos, Tales Abreu e Milena Abreu, com quem aprendi a partilhar, a me doar em ajuda ao próximo, e a brigar. Assim como a toda minha família, alicerce que sempre me sustentou, estimulou e orientou.

Agradeço ao Professor Antonio Marcus, pela oportunidade, bem como pela confiança em mim depositada.

Agradeço aos colegas de curso, com quem enfrentei muitas noites e feriados de estudo, e em especial aos colegas de laboratório, Vinícius e Pierre, que muitas vezes pararam suas atividades para me ajudar.

Enfim, agradeço a todos que, de alguma forma, passaram pela minha vida e contribuíram para a construção de quem sou hoje, de forma especial a amigos e irmãos que fiz no EJC e na PJ, ambos do Catolé.

"Se choras por não ter visto o pôr do Sol, as lágrimas não te deixarão ver as estrelas."

(Bob Marley).

RESUMO

O Sistema Eletrônico de Aquisição e Processamento para Bio-sensores do laboratório LARCA da UFCG consiste em um módulo portátil de bio-sensor que utiliza o método da ressonância de *plásmons* de superfície pelo método de interrogação angular (AIM). Porém algumas melhorias ainda são necessárias para o correto funcionamento, de forma que realizar algumas das melhorias mais críticas ao seu funcionamento é o objetivo deste trabalho de estágio. Novas peças para fixação do bio-chip e da célula de fluxo são sugeridas. Um estudo da resposta do diodo *laser* foi realizado utilizado à variação de corrente elétrica e temperatura. Estudo este que deixa clara a necessidade de controles da corrente e temperatura do diodo, mas apenas o controle da corrente elétrica é realizado. Para isso é utilizado um controlador PI, implementado com amplificadores operacionais.

Palavras-chave:Bio-sensor, SPR, controlador PI.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Esquema de funcionamento do bio-sensor, com etapas de biocatalização, transdução, aquisição e tratamento de dados.....	6
Figura 2. Exemplo de Biocatalizador cujo elemento sensível é o anticorpo. (Souza Filho, 2006). [5]	7
Figura 3. Curva SPR antes e depois da reação substrato-biocatalizador. (Lowe, 2007). [1].....	9
Figura 4. Métodos de monitoramento da excitação SPR (a) angular e (b) comprimento de onda. (Moreira, 2008). [7].....	10
Figura 5. Uma imagem bi-dimensional SPR proveniente da câmera CCD e a respectiva curva SPR, onde a queda na refletividade é mostrada. (Moreira, 2009). [3]	11
Figura 6. Diagramas de caso de uso do sistema e do usuário. (Souza Filho, 2006). [5].....	13
Figura 7. Arquitetura Básica do Sistema (Souza Filho, 2006). [5].....	14
Figura 8. Diagrama de classes dos <i>softwres</i> desenvolvidos para as CPUs d as Unidades de Processamento e de Aquisição e Controle.....	15
Figura 9. Transdutor óptico para o método SPR com interrogação de ângulo utilizando DOCE como acoplamento. (Souza Filho, 2006). [5].....	17
Figura 10. Hardware desenvolvido. (Souza Filho, 2006). [5]	18
Figura 11. Estrutura metálica do Bio-sensor. (Souza Filho, 2006). [5].....	19
Figura 12. Circuito fonte de corrente controlada por tensão.	23
Figura 13. Espectros dos Sinais luminosos do diodo Laser e respectiva corrente de alimentação. tempo de integração de 5ms com resolução de aproximadamente 0,3nm.	24
Figura 14. Curvas do (a) Comprimento de onda do valor de pico X temperatura e (b)Valor de pico X temperatura. Gráficos com 3340 medições realizadas a uma taxa aproximada de 9 amostras em 10 segundos.	26
Figura 15. Curvas do (a) Comprimento de onda do valor de pico X corrente elétrica e (b) valor e Pico X Corrente Elétrica.....	27
Figura 16. Novo suporte para o diodo laser. Imagem em 3D e vistas.....	28
Figura 17. Novo suporte do bio-chip e célula de fluxo. Imagem 3D e vistas.	29
Figura 18. Controlador PI implementado por <i>Software</i> no ADuC841.....	30
Figura 19. (a) Diodo laser utilizado, pino comum: fotodiodo (PD) catodo – diodo laser (LD) anodo. (b) Circuito utilizado para mediação da corrente resposta do fotodiodo.	31
Figura 20. Caracterizando a resposta do fotodiodo.....	31
Figura 21. Controlador PI, diagrama de blocos.	31
Figura 22. Resposta Ao degrau do controlador projetado.	33
Figura 23. Circuito do controlador PI de corrente.	33

SUMÁRIO

Agradecimentos	v
Resumo.....	vii
Lista de Ilustrações	viii
Sumário	ix
1 Introdução	1
1.1 Objetivo Geral.....	2
1.2 Objetivos Específicos	3
2 Embasamento Teórico	5
2.1 O Funcionamento dos Bio-sensores	5
2.2 Ressonância de Plásmons de Superfície (SPR).....	9
3 O Sistema Eletrônico de Aquisição e Processamento para Bio-sensores	12
3.1 Requisitos sobre os quais o sistema foi elaborado	12
3.2 O Sistema Eletrônico de Aquisição e Processamento para Bio-sensores.....	13
3.3 Aquisição da Imagem SPR	16
3.4 O Microcontrolador	17
3.5 A Estrutura Mecânica	19
4 Atividades Realizadas.....	21
1 Atividades	21
4.1 Atividades 1 e 14	22
4.2 Atividade 5	23
4.3 Atividade 9	27
4.4 Atividade 6	29
4.5 Atividade 2	30
5 Considerações Finais	34
Bibliografia	35

1 INTRODUÇÃO

A primeira publicação na área de bio-sensores foi do Professor Leland C. Clark em 1956. Porém, apenas em 1962 Clark, juntamente com Lyons, construiu o primeiro bio-sensor. Depositando glicose oxidase¹(GOx) solúvel entre uma membrana exterior de diálise e uma membrana permeável a gás de um eletrodo de medição de oxigênio (O₂) verificou-se que a redução na concentração do oxigênio dissolvido detectada pelo eletrodo era proporcional à concentração de glicose na amostra. Logo se percebeu que poderiam ser criados eletrodos de enzimas para detectar uma grande variedade de substâncias.

A essa família de sensores que estava surgindo foi dado nome de *sensor bioeletivo*, e posteriormente *bio-sensor*, que designa qualquer dispositivo sensor que combina um sistema de reconhecimento de origem biológica e um transdutor físico-químico [1].

Hoje os bio-sensores estão em grande expansão no mercado, pois são uma ótima alternativa para os sofisticados equipamentos utilizados na medicina, equipamentos grandes que requerem muito tempo de análise e um elevado custo de treinamento de pessoal, além do custo da máquina. O exemplo de Kubota retrata uma vantagem dos bio-sensores:

O paciente dá entrada no pronto-socorro. Os médicos suspeitam de intoxicação por salicilato, produto da hidrólise do ácido acetilsalicílico, a aspirina. A dose terapêutica e a dose tóxica do salicilato são muito próximas. Em níveis altos, o salicilato causa lesões no estômago, diminuição da capacidade auditiva, vertigens e zumbidos. Em doses ainda mais altas, pode ser fatal pela depressão respiratória. Rapidamente, os médicos tiram uma amostra do sangue do paciente e fazem um teste rápido e econômico, usando um biossensor. Logo, o diagnóstico é confirmado ou desmentido. [2]

As aplicações dos bio-sensores não estão apenas na área da medicina. Também são utilizados na pesquisa farmacêutica, detectando patógenos, ou em áreas mais

¹A **glicose oxidase** (GOx) é uma enzima que se liga à beta-D-glicose (um isômero do seis carbonos da glicose) e catalisa a quebra desta açúcar nos seus metabolitos.

variadas como o monitoramento ambiental ou segurança alimentar, detectando contaminantes biológicos e químicos ou analisando a demanda química de oxigênio (DQO) e a demanda bioquímica de oxigênio (DBO), entre outros.

“Características vantajosas, tais como o tempo de resposta de minutos a horas, portabilidade, análise em tempo real, possibilidade de integração e um ônus mais baixo são vantagens dos bio-sensores face aos métodos convencionais” [3].

Essas vantagens: preço, velocidade de resposta e tamanho reduzido, dos bio-sensores possibilitam o monitoramento contínuo de patologias. Por exemplo a dosagem de enzimas no sangue: após um infarto ocorre a liberação de enzimas, AST e CPK, pelas células cardíacas necrosadas, assim, bio-sensores em pacientes cardíacos podem detectar o infarto antes mesmo de o paciente sentir seus sintomas, o que nem sempre ocorre, possibilitando um tratamento rápido que pode prevenir mortes e até seqüelas em pacientes. A portabilidade e o tempo de resposta também facilitam o atendimento médico em regiões remotas, monitoramento ambiental em regiões distantes dos laboratórios de análise.

Um exemplo da eficiência quanto ao tempo de resposta dos bio-sensores é teste da DBO, cujo teste convencional de DBO dura 5 dias e pode ser feito com bio-sensores com uma resposta de 15-20 minutos [4].

Dessa forma este estágio no laboratório LARCA (Laboratório de Referência em Controle e Automação) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG) tem por objetivo melhorar o Sistema Eletrônico de Aquisição e Processamento para Bio-sensores desenvolvido durante o mestrado de Carlos Alberto de Souza Filho, 2006 [5].

Neste documento iniciaremos com uma abordagem teórica sobre bio-sensores e o método SPR, seguido de uma explanação do módulo objeto de nosso trabalho, suas funcionalidades e problemas, por fim descreveremos as melhorias a serem implementadas e sua importância, bem como o que foi efetivamente feito.

1.1 OBJETIVO GERAL

Implementar melhorias no Sistema Eletrônico de Aquisição e Processamento para Bio-sensores, um módulo portátil de bio-sensoramento pelo método SPR

(*SurfacePlasmonResonance*), do laboratório LARCA. Melhorias estas que envolvem a estrutura mecânica, desde pintura a desenho de novas peças, a estrutura eletrônica, desde sensoriamento e controle de corrente elétrica e temperatura até troca do microcontrolador, e o software CAMBIO, como aquisição de medição de corrente elétrica e temperatura e implementação.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para atingir o objetivo geral do estágio, foi definida uma lista de atividades como plano de trabalho:

1. Estudar os bio-sensores SPR;
2. Controlador de corrente controlado por software;
3. Controlador de temperatura com ajuste da referência por software;
4. Implementação da aquisição da temperatura e da corrente no CAMBIO software;
5. Levantar a característica de comprimento de onda em função da temperatura e da corrente do laser;
6. Especificar uma nova câmera ;
 - a. Procurar câmera por modulação de pulso ou com amostragem dupla correlacionada;
7. Especificar conversor AD;
8. Modificar a Unidade de Aquisição e Controle do CAMBIO para acrescentar memória externa;
9. Projetar melhorias na montagem mecânica:
 - a. Pintura da estrutura metálica para evitar reflexão interna
 - b. Ajuste da posição da câmera;
 - c. Melhorar o suporte do diodo laser para permitir o alinhamento e um melhor controle de temperatura
 - d. Substituir a colocação do bio-chip
 - e. Providenciar uma tampa adequada para a célula de fluxo
10. Reproduzir o desenho da montagem no Inventor

11. Implementar o ajuste polinomial no CAMBIO software e outros métodos de estimação do ângulo de ressonância
12. Modelar o sistema através de software de simulação (COMSOL, programas ópticos ZEMAX, etc)
13. Analisar a variação da temperatura no analito durante a mudança de substâncias analisadas
14. Controlar o DSP do OMAP através do Linux

2 EMBASAMENTO TEÓRICO

Diferente de sensores químicos, bio-sensores utilizam de componentes biológicos – antígenos, anticorpos, enzimas, ácidos nucleicos ou células – para produzir reações que servirão de entrada para diversos componentes físicos, como fibras ópticas, dispositivos acústicos, eletrodos ou polímeros condutores, que permitirão a detecção, tratamento e análise de dados dessa reação para nos dar a informação desejada.

Bio-sensores envolvem conhecimentos de biologia, química e física, aplicados em engenharia e computação. E cada uma dessas áreas tem sua própria visão do que vem a ser o bio-sensor [1]:

- “Um dispositivo que traduz variações biológicas, como potenciais elétricos no corpo, movimento ou concentrações químicas em sinais elétricos.” – Biólogo;
- “Um dispositivo que utiliza reações bioquímicas específicas mediadas por enzimas, imunossistemas, tecidos, organelas ou todas essas células para detectar para detectar compostos químicos, usualmente pó sinais elétricos, térmicos ou ópticos.” – Químico;
- “Um dispositivo que detecta, memoriza e transmite informações sobre um processo, ou variação físico-química.” – Físico;
- “Um dispositivo que converte a concentração da substância alvo em sinal elétrico através da associação íntima de um sistema biológico e um transdutor.” – Engenheiro Eletricista.

É importante notar que bio-sensores não medem uma determinada substância apenas, por estar relacionada a uma reação específica o bio-sensor mede toda substância capaz de causar essa reação.

2.1 O FUNCIONAMENTO DOS BIO-SENSORES

O principal objetivo de um bio-sensor é produzir um sinal eletrônico proporcional à substância, ou grupo de substâncias, que se deseja analisar. Para isso a substância ao entrar em contato com o biocatalizador gera uma reação que é transformada em um sinal elétrico por um transdutor, sinal este que é interpretado pelo

sistema de aquisição e processamento de dados, o diagrama da Figura 1 ilustra esse passo-a-passo.

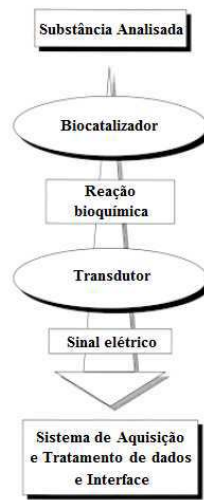


Figura 1. Esquema de funcionamento do bio-sensor, com etapas de biocatalização, transdução, aquisição e tratamento de dados.

O biocatalizador possibilita, ou acelera, uma reação desejada com a substância analisada. Ele é composto de uma camada bioquímica que agrega o elemento biológico sensível, ou seja, um elemento que se “liga” à substância medida e com ela ocorre a reação que será mensurada pelo transdutor. Qualquer substância capaz de reagir com o biocatalizador e gerar a reação medida será sensorizada pelo bio-sensor em questão, dessa forma a camada bioquímica deve ser escolhida de acordo com a substância que se deseja analisar e as demais substâncias comuns em seu meio, essa camada bioquímica do biocatalizador é responsável por garantir a especificidade do bio-sensor. O elemento biológico sensível pode ser organelas (mitocôndrias, microssomos cloroplastos), células inteiras (bactérias), pedaços de tecidos, substâncias ligantes, enzimas e anticorpos. Estes últimos são mais utilizados, pois atuam apenas com um substrato específico (modelo chave-fechadura). A Figura 2 representa um sistema biocatalizador com anticorpo como elemento biológico sensível.

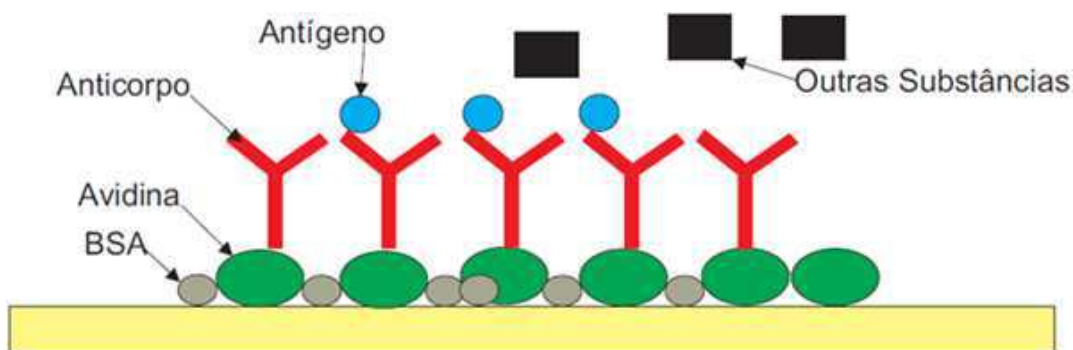


Figura 2. Exemplo de Biocatalizador cujo elemento sensível é o anticorpo. (Souza Filho, 2006). [5]

Na Figura 2 pode ser visto um filme metálico de ouro sobre o qual se deposita uma substância que se liga fortemente ao ouro, no exemplo acima Avidina. Nos espaços vazios é colocada uma substância bloqueante, no exemplo a proteína Albumina (BSA – *Bovine Serum Albumin*), evitando que substâncias indesejadas se fixem à camada de ouro. Sobre esta substância também é fixado o elemento biológico sensível, no caso o anticorpo. Dessa forma qualquer substância em contato com o biocatalizador será ignorada, apenas o antígeno, específico e único para o anticorpo utilizado, será capaz de alterar as grandezas físicas e químicas do biocatalizador e o resultado desta alteração excitará o transdutor. É importante ressaltar que o biocatalizador não se desgasta com o uso, podendo até se reproduzir.

Os bio-sensores podem ser classificados em três gerações de acordo com a reação do biocatalizador em relação ao transdutor: 1ª Geração – o produto gerado pela reação é convertido pelo transdutor físico-químico em um sinal elétrico; 2ª Geração: a reação não é capaz de excitar o transdutor, sendo necessária a presença de mediadores; 3ª Geração: a própria reação gera a resposta elétrica, sem envolvimento de nenhum processo de difusão, aumentando drasticamente a velocidade de resposta.

Transdutores são responsáveis por tornar as mais diversas grandezas físicas, químicas ou biológicas em grandezas eletronicamente mensuráveis, ou seja, sinais elétricos com alta sensibilidade e robustez a distúrbios. Geralmente descritos por sua sensibilidade a sinais de entrada ou a precisão dos seus sinais de saída. Muitas vezes esses transdutores são fabricados em circuitos integrados, o que permite redução de custos e biocompatibilidade, sendo implantados em animais para medições de componentes de seu sangue em tempo real [6]. Diferentes tipos de sensores reagem a calor, luz, som, magnetismo, eletricidade, radiação, vibração, tensão mecânica, pressão e aceleração, e a maioria é ou já foi utilizada em bio-sensores, porém os transdutores

eletroquímicos, ópticos e acústicos provavelmente são responsáveis por mais de 90% dos trabalhos publicados sobre biossensores.

Os transdutores eletroquímicos se baseiam em três técnicas de medição: Amperometria ou medição de corrente, que tem como base o fato de que algumas espécies químicas eletroativas são oxidadas ou reduzidas quando é aplicado um potencial constante em eletrodos condutores; Coulometria ou medição de carga, que é a aplicação da primeira Lei de Farady, da eletrolise, segundo a qual o avanço de uma reação em um eletrodo é diretamente proporcional à quantidade de eletricidade que passa por ele; e Potenciometria que mede a diferença de potencial entre dois eletrodos quando a corrente é nula, essa técnica é utilizada em eletrodos íon-seletivos (ISE - ionselectiveelectrodes), como o eletrodo de pH de vidro.

Transdutores acústicos ou piezelétricos são dispositivos de onda acústica que operam no espectro de ultra-som. Nesta faixa encontram-se frequências das vibrações elásticas de certos materiais, incluindo os cristais piezelétricos naturais. O fenômeno de piezeletricidade é próprio de cristais com estrutura anisotrópica, que não têm centro de simetria. A direção do dipolo é orientada por um eixo polar, quando um cristal deste tipo é colocado em condições de estresse (comprimindo ou deformando elasticamente), o dipolo é realinhado determinando o aparecimento de um campo elétrico.

Transdutores ópticos atraíram muito interesse no campo de bio-sensores por várias razões, além tem uma longa história de uso em análises químicas e bioquímicas eles funcionam bem em soluções aquosas, os métodos são não-destrutivos, e podem ser utilizados em análise em tempo real e medições cinéticas, os métodos ainda podem ser configurados para serem específicos na superfície, ou seja, apenas respostas próximas ou na superfície do transdutor de forma que algumas interferências minimizadas e, finalmente, eles são sensíveis. Dos transdutores ópticos nos aprofundaremos no método utilizado pelo módulo alvo do trabalho, ou seja, o método SPR.

2.2 RESSONÂNCIA DE PLÁSMONS DE SUPERFÍCIE (SPR)

A ressonância de plásmons de superfície (*Surface Plasmon Resonance – SPR*) é um fenômeno quântico eletro-óptico que surge da interação da luz com os elétrons livres na superfície de um metal.

Quando a luz se propaga de um meio de maior índice de refração para o meio de menor índice de refração existe um determinado ângulo de incidência, denominado ângulo crítico a partir do qual o raio luminoso incidente é totalmente refletido, esse fenômeno é chamado de reflexão interna total (*Total Internal Reflection – TIR*). Em um determinado ângulo de incidência ressonante, maior que o ângulo crítico, a energia dos *fótons* de luz é transferida para a excitação de elétrons, denominados *plásmons*, que se propagam na forma de onda na superfície do metal, na realidade não só na superfície, mas decaem exponencialmente com a distância de penetração no meio. O que ocorre é que alterações no índice de refração do meio biocatalizador causadas pela ligação com a substância que se deseja analisar resultam em uma alteração no ângulo de incidência ressonante, ou seja, na curva SPR resultante, como pode ser visto na Figura 3.

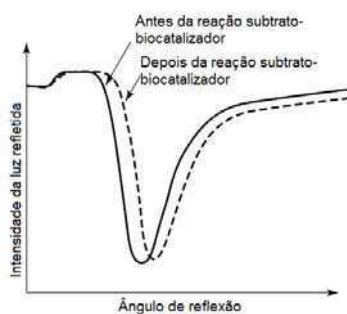


Figura 3. Curva SPR antes e depois da reação substrato-biocatalizador. (Lowe, 2007). [1]

São conhecidos na literatura cinco métodos de monitoramento da excitação SPR: interrogação angular, interrogação de comprimento de onda, interrogação de intensidade, interrogação de fase e interrogação de polarização. Porém só serão citados aqui os métodos angular e de comprimento de onda por serem os mais utilizados [7].

No modo de interrogação angular (*Angular Interrogation Mode – AIM*) um feixe de luz p-polarizado com comprimento de onda constante incide no material sensível em diferentes ângulos, ver Figura 4(a), neste caso uma matriz de LEDs ou uma câmera

CCD pode ser empregada para detectar o sinal refletido. No caso do modo de interrogação de comprimento de onda (*Wavelength Interrogation Mode – WIM*) feixes luminosos p-polarizados de comprimento de onda variável incidem na superfície sensível em um ângulo de incidência constante, ver Figura 4(b), geralmente um espectrômetro é o detector óptico neste método.

No módulo estudado é utilizado o modo SPR AIM, neste caso o modelo matemático da onda de plásmons resulta em um vetor (\mathbf{k}_{sp}), ver Eq. 1 [5] apud (Raether, 1988) e (C.Thistrup, 2004), dependente da parte real da permissividade elétrica do condutor (ϵ_{mr}), do índice de refração do meio biocatalizador (η_{bioc}) e do comprimento de onda (λ) da luz incidente e da onda de plásmons.

$$\mathbf{k}_{sp} = \frac{2\pi}{\lambda} \cdot \sqrt{\frac{\epsilon_{mr} \cdot \eta_{bioc}^2}{\epsilon_{mr} + \eta_{bioc}^2}} \quad \text{Eq. 1}$$

Já a componente do feixe de luz incidente (\mathbf{k}_x), ver Eq. 2 [5] apud (Raether, 1988) e (C.Thistrup, 2004), depende do comprimento de onda (λ) da luz incidente, do índice de refração do elemento óptico de difração (DOCE) (η_{DOCE}), meio no qual se encontra o feixe luminoso incidente, e do seno do ângulo de incidência (θ).

$$\mathbf{k}_x = \frac{2\pi}{\lambda} \cdot \eta_{DOCE} \cdot \text{sen}(\theta) \quad \text{Eq. 2}$$

Quando o ângulo de incidência do feixe luminoso é igual ao ângulo de ressonância ($\theta = \theta_{res}$) o fenômeno da ressonância dos plásmons de superfície ocorrerá, então $\mathbf{k}_{sp} = \mathbf{k}_x$, assim, igualando Eq. 1 e Eq. 2 obtém-se o índice de refração do material biológico sensível (η_{bioc}), como pode ser visto na Eq. 3.

$$\eta_{bioc} = \frac{\epsilon_{mr} \cdot [\eta_{chip} \cdot \text{sen}(\theta_{res})]^2}{\epsilon_{mr} - [\eta_{chip} \cdot \text{sen}(\theta_{res})]^2} \quad \text{Eq. 3}$$

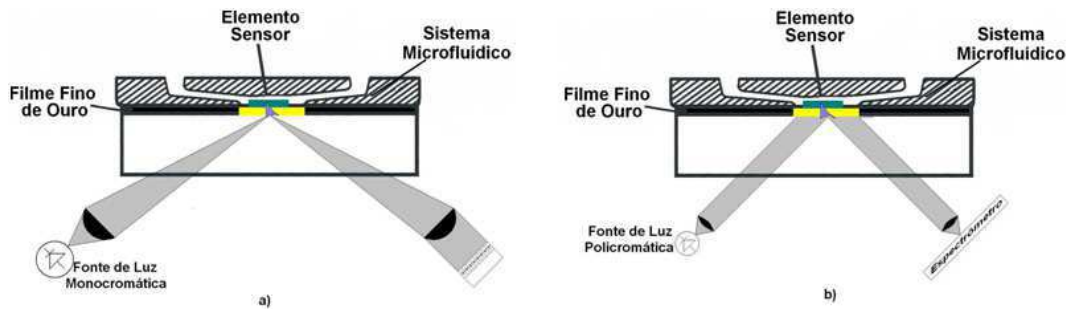


Figura 4. Métodos de monitoramento da excitação SPR (a) angular e (b) comprimento de onda. (Moreira, 2008). [7]

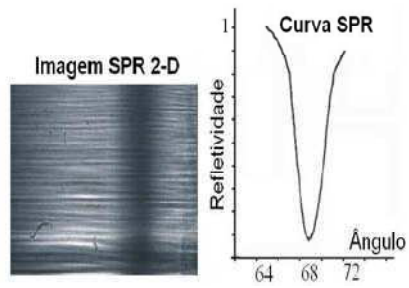


Figura 5. Uma imagem bi-dimensional SPR proveniente da câmera CCD e a respectiva curva SPR, onde a queda na refletividade é mostrada. (Moreira, 2009). [3]

A alteração pronunciada pelo deslocamento da posição do mínimo da curva SPR, ver Figura 3, proveniente da fixação da substância a ser medida no elemento biosensível nos permite calcular um novo ângulo de ressonância (θ_{res}') e, com a Eq. 3, um novo índice de refração η_{bioc}' . Por isso uma matriz de fotodiodos, ou uma câmera CCD, é utilizada para captar o sinal refletido e calcular a curva SPR. A Figura 5 mostra uma imagem bi-dimensional obtida de uma câmera CCD em bio-sensor SPR, porém no módulo bio-sensor alvo deste trabalho é utilizada uma câmera CMOS unidimensional.

3 O SISTEMA ELETRÔNICO DE AQUISIÇÃO E PROCESSAMENTO PARA BIO-SENSORES

O Sistema Eletrônico de Aquisição e Processamento para Bio-sensores construído durante o mestrado de Carlos Alberto de Souza Filho, 2006 [5] é o alvo do estágio supervisionado descrito neste relatório, estágio este que foi acompanhado e auxiliado pelo próprio Carlos Alberto, além do professor orientador.

Antes da descrição das atividades realizadas, sugeridas pelo próprio autor do sistema objeto do estágio, será feita uma breve explanação do sistema implementado, com maior ênfase nas partes que necessitam ser melhoradas, para maiores detalhes consultar (Souza Filho, 2006) [5].

3.1 REQUISITOS SOBRE OS QUAIS O SISTEMA FOI ELABORADO

O Sistema Eletrônico de Aquisição e Processamento para Bio-sensores deve conter um sistema embarcado responsável pelo controle do sistema completo e pelo processamento dos dados adquiridos, esse sistema deve cumprir com os requisitos apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Requisitos do projeto. (Souza Filho, 2006). [5]

Nome	Sistema Eletrônico de Aquisição e Processamento para Bio-sensores
Objetivo	Medir o Índice de Refração
Entradas	teclado ou <i>touchscreen</i> ; sinal de imagem da curva SPR; temperatura do diodo <i>laser</i> ; corrente do diodo <i>laser</i> .
Saídas	<i>display LCD</i> ; sinais de controle da câmera; sinais de controle de temperatura; sinais de controle de corrente.
Funções	excitar o efeito SPR; pré-processar o sinal da Curva SPR; encontrar o mínimo da curva SPR; variar o nível de corrente e da temperatura; disponibilizar a curva SPR e o índice de refração calculado.
Desempenho	calcular o índice de refração em um tempo de amostragem menor que 2 segundos com uma precisão na ordem de 1.10^{-5} RIU
Tamanho e Peso	suficientes para ser transportado com facilidade por uma pessoa

Os diagramas de caso de uso da Figura 6 mostram as ações que o usuário pode realizar e as funcionalidade do sistema, ou seja, o que o equipamento pode realizar.

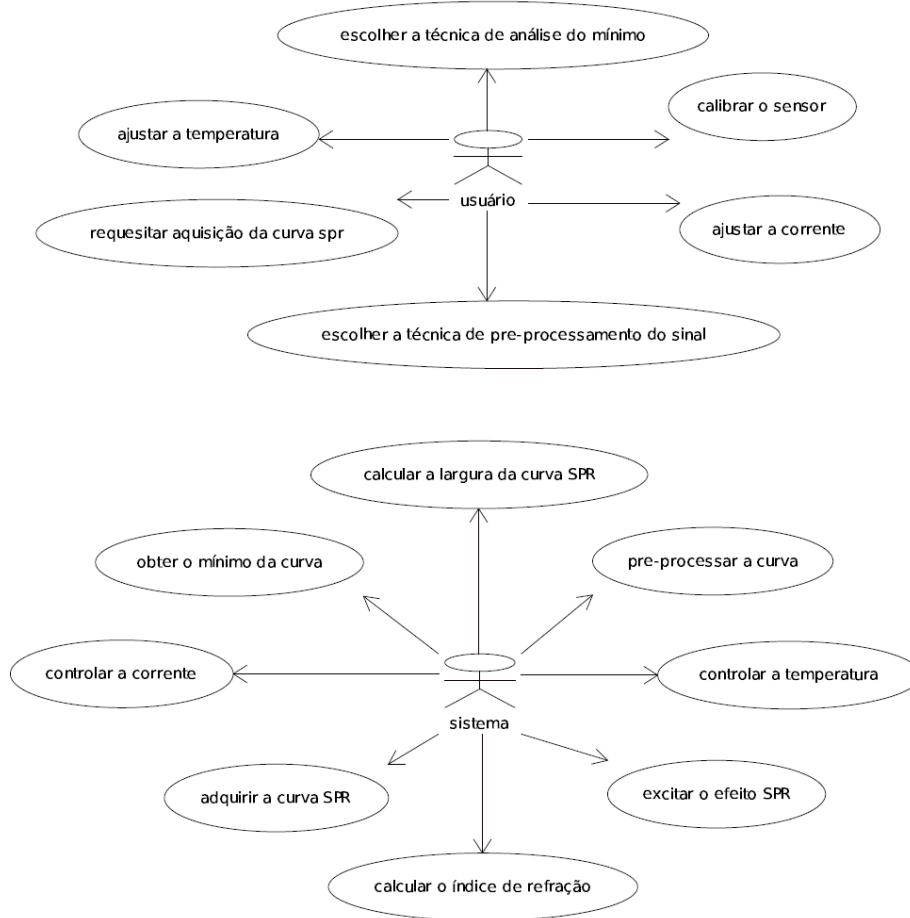


Figura 6. Diagramas de caso de uso do sistema e do usuário. (Souza Filho, 2006). [5]

3.2 O SISTEMA ELETRÔNICO DE AQUISIÇÃO E PROCESSAMENTO PARA BIO-SENSORES

O Sistema Eletrônico de Aquisição e Processamento para Bio-sensores implementado pode ser dividido em dois grandes módulos:

- **Unidade de Aquisição e Controle:** responsável pela excitação do efeito SPR, aquisição do sinal de imagem, controle da corrente elétrica no diodo *laser* e controle da temperatura do mesmo;

- **Unidade de Processamento:** responsável por de executar a interface gráfica com o usuário, processar os algoritmos para suavizar a curva SPR e obter do ângulo de ressonância.

O *hardware* desenvolvido para compor a Unidade de Aquisição e Controle, apresentado na Figura 7, contém: uma Unidade de Aquisição de Imagem adquire a imagem da curva SPR através de uma câmera que depende de uma circuito de condicionamento e um conversor analógico-digital para enviar seus dados à CPU, um ADuC841, dessa unidade; uma Unidade de Controle que mantém as condições de operação do diodo *laser* estáveis através de um controlador de corrente elétrica e um controlador de temperatura; e um ADuC841 como CPU para gerenciar a comunicação com a Unidade de Processamento, através do protocolo *Basic Transmission* (BT)², e gera os sinais de controle para a Unidade de Aquisição de Imagem e para a Unidade de Controle.

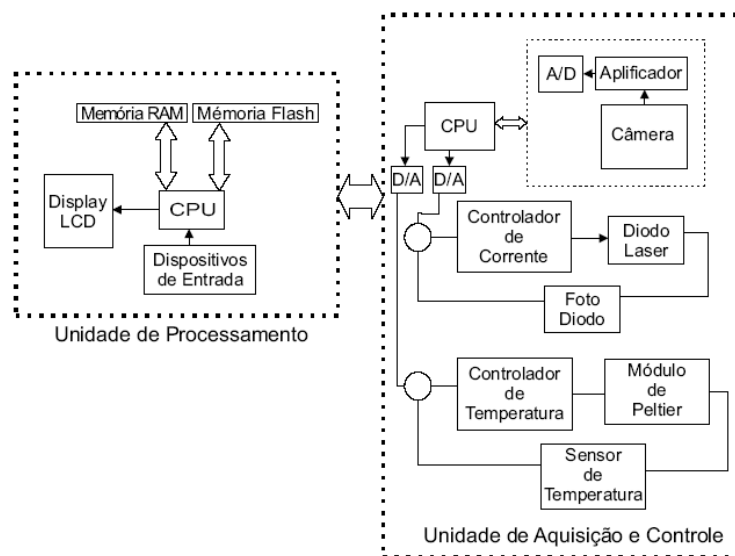


Figura 7. Arquitetura Básica do Sistema (Souza Filho, 2006). [5]

A Unidade de Processamento, como mostrado na Figura 7, possui: um display LCD que fornece os recursos visuais da interface com o usuário; dispositivos de entrada (teclado, mouse e um *touch screen*) para permitir que o usuário interaja com o sistema; memória flash cuja função é armazenar o sistema operacional do dispositivo, o software implementado e os dados referentes às medições realizadas com o instrumento; memória RAM suficiente para atender os requisitos do software desenvolvido; e uma

² Protocolo desenvolvido por Carlos Alberto de Souza Filho e Tomas Victor Araújo para gerenciar comunicação serial com a CPU da Unidade de Processamento.

CPU para executar o *software* desenvolvido, essa Unidade de Processamento pode ser um computador pessoal ou o *kit Innovator 1510* da *Texas Instrument*, que será descrito mais adiante.

Cada unidade acima descrita tem sua CPU controlada por um *software* diferente. O CAMBIO, *software* desenvolvido para a Unidade de Processamento, como mostra a Figura 8, consiste basicamente em quatro métodos classes: Interface com o usuário, que deve apresentar os dados no *display* e receber dados de entrada (método a ser utilizado e valores de temperatura e corrente para operação do diodo *laser*); Pré-Processamento, que realiza um tratamento do sinal bruto a fim de minimizar o efeito do ruído (média espectral, suavização da curva e soma normalizada); Métodos de Análise, métodos de tratamento dos dados para obtenção do ângulo de ressonância (Primeiro Momento e Ajuste Polinomial); e Leitor de Dados, que solicita a leitura do sinal de imagem da curva SPR à Unidade de Aquisição e Controle, gerenciando a comunicação e armazenando os dados obtidos.

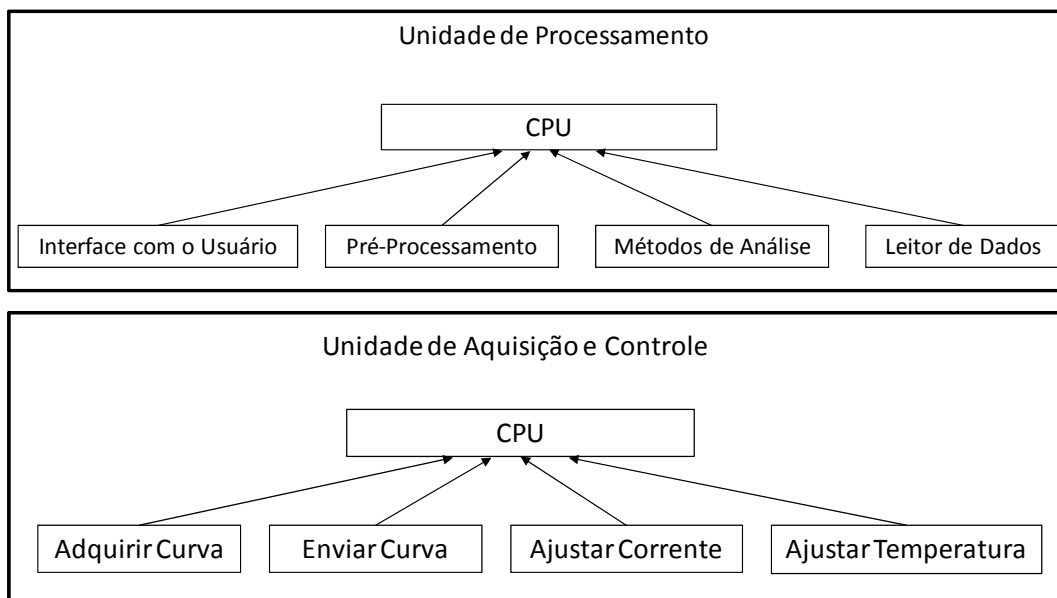


Figura 8. Diagrama de classes dos *softwares* desenvolvidos para as CPUs das Unidades de Processamento e de Aquisição e Controle.

O *software* desenvolvido para a Unidade de Aquisição e Controle, ver Figura 8, possui quatro métodos: Adquirir Curva, envia os sinais de controle para a câmera e recebe os dados da imagem SPR adquirida pela mesma; Enviar Curva, comunica com a Unidade de Processamento, através do protocolo BT, para enviar os dados da imagem adquirida; Ajustar Corrente e Ajustar Temperatura, que enviam os sinais de referência que os controladores devem seguir.

Das ações do usuário, ver Figura 6, apenas duas não foram implementadas: “ajustar a corrente” e “ajustar a temperatura”, de forma que as atividades 2, 3 e 4 da lista apresentada nos objetivos específicos implicam na implementação desta função. No sistema implementado a ação “escolher a técnica de análise do mínimo” é limitada ao método do primeiro momento, a atividade 11 deve aumentar as opções do usuário.

Das funcionalidades do sistema as ações “controle de corrente” e “controle de temperatura” são realizadas pelos controladores LD1100 e TCM1000T respectivamente, feitos pelos devem ser modificados para controladores projetados especificamente para o diodo laser que utilizado e cujo *setpoint* possa ser ajustado pelo microcontrolador utilizado.

3.3 AQUISIÇÃO DA IMAGEM SPR

A resposta de excitação do efeito SPR é adquirida captando-se o sinal de imagem gerado pela reflexão da luz incidente no bio-chip, por isso a aquisição da imagem refletida deve ser bem estudada.

O elemento sensor de imagem escolhido foi uma câmera CMOS unidimensional de 1024 pixel da Hamamatsu (S9226), cujas características elétricas e ópticas podem ser vistas na Tabela 2.

Tabela 2. Características Elétricas e Ópticas da Câmera S9226.

Parâmetro	Valor
Frequência do Clock	$f_{clk} = 800\text{kHz}$
Velocidade de aquisição	$f_{clk}/4 = 200\text{ kHz}$
Corrente Escura	3fA a 30fA
Ruído de Leitura da Saída	0.3 - mV_{rms}
Resposta de Não Uniformidade do Fóton	$\pm 5\%$
Sensibilidade máxima da câmera	700nm

Os principais pontos positivos desta câmera são sua velocidade de aquisição e a sensibilidade máxima da câmera ocorre em um comprimento de onda bem próximo ao do diodo laser que está sendo utilizado, 670nm. Porém a resposta não de uniformidade do fóton, de até 5%, implica em uma depreciação do sinal além da desejada, uma normalização do sinal medido minimiza este problema, mas não o suficiente.

Outro ponto negativo da câmera S9226 é o fato de ser unidimensional o que impossibilita que seja feita uma média do sinal em função do número de linhas em um mesmo quadro e que seja feita a medição da referência e do sinal simultaneamente,

minimizando o erro, porém, como a memória é um fator limitante a câmera unidimensional se mostrou uma boa opção. Assim as atividades 6 e 8 representam uma melhoria significativa no sistema.

A atividade 6 ainda inclui a escolha de uma câmera por amostragem dupla correlacionada ou por modulação de pulso, ambas as técnicas representam uma redução no ruído ao qual o sistema é submetido, porém resta decidir qual é a melhor opção.

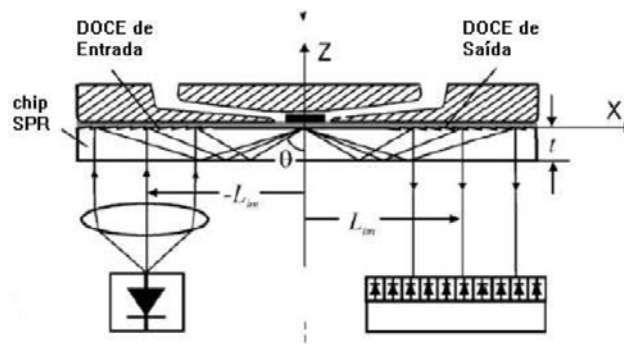


Figura 9. Transdutor óptico para o método SPR com interrogação de ângulo utilizando DOCE como acoplamento. (Souza Filho, 2006). [5]

3.4 O MICROCONTROLADOR

O microcontrolador ADuC841, o mais rápido da família 800 com até 20MIPS, foi escolhido como CPU da Unidade de Aquisição e Controle, porém este está aquém dos requisitos mínimos para realização dos cálculos necessários no método SPR de interrogação angular, dessa forma o hardware desenvolvido foi pensado para adquirir, armazenar e enviar os dados para outra CPU na Unidade de Processamento, que possui os requisitos mínimos para a realização dos cálculos, Esta unidade consiste em um computador pessoal, como pode ser visto na Figura 10. A figura também mostra uma comunicação para o *Innovator 1510*, isso porque já foi prevista uma expansão do sistema para ser utilizado com o OMAP1510, pertencente ao *kit Innovator 1510* da *Texas Instrument*, que tem um processador digital de sinais (DSP) capaz de realizar todos os cálculos necessário, tornando o sistema totalmente portátil.

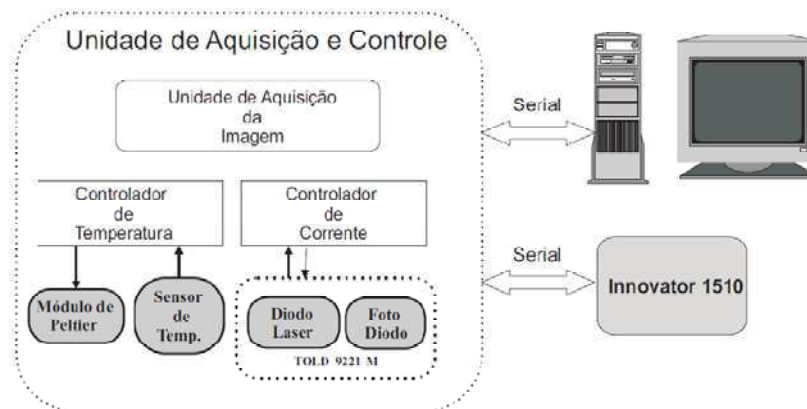


Figura 10. Hardware desenvolvido. (Souza Filho, 2006). [5]

O *Innovator 1510* é uma plataforma de desenvolvimento versátil, criada de forma modular, que pode ser utilizada como produto final. Esta plataforma oferece recursos que permite utilizar as principais funcionalidades do OMAP1510, através de 5 módulos:

1. Módulo do Processador- é composto pelo processador OMAP1510, memória SDRAM de 32MBytes, memória Flash para usuário de 32MBytes, acesso a memória SD/MMC, Boot Flash de 4 MBytes, memória RAM de 256 kBytes e alimentação.
2. Módulo de Interface- composto por um display LCD de 240x320 pixels e 65,535 cores, touchscreen, 4 chaves, 2 portas USB, 2 portas seriais, um microfone, codec de audio, Headphone, interface para o módulo da câmera, gerenciador de bateria
3. Módulo de expansão- disponibiliza os pinos dos periféricos do OMAP, oferecendo ao usuário a possibilidade de desenvolver seu próprio circuito e poder acoplar ao kit, adicionando funcionalidades específicas da aplicação.
4. BreakoutBoard- proporciona suporte a teclado, mouse, ethernet e capacidade de depuração avançada.
5. Módulo da Câmera- é composto por uma câmera CMOS de 8 bits.

A utilização desse kit representa uma grande melhoria no sistema, pois a substituição do ADuC841 pelo OMAP1510 possibilita mais memória e processamento, pois o OMAP1510 tem um processador ARM e um DSP, além do *kit Innovator* já possuir toda uma interface com usuário, dessa forma o DSP do OMAP, e não um

computador, poderia ser responsável pelos cálculos necessários ao método SPR utilizado, o que tornaria o sistema totalmente portátil.

A linguagem de programação QT foi escolhida para desenvolvimento do software CAMBIO, responsável pela interface com o usuário e pelos cálculos necessários à aquisição da curva SPR. Essa linguagem foi escolhida porque além de ser simples e livre permite que o mesmo código gerado para ser executado por um computador pessoal seja executado no *Innovator1510*. Ainda para facilitar a transição para esse *kit* da *Texas Instrument* toda a interface foi criada com dimensões compatíveis com as dimensões da tela do *Innovator*. Essa transição representa as atividades 10 e 14.

3.5 A ESTRUTURA MECÂNICA

A Figura 11 ilustra a estrutura modular de alumínio sobre a qual foi construído o Sistema Eletrônico de Aquisição e Processamento para Bio-sensores. Dentro da caixa principal estão localizados: o diodo laser, responsável pela excitação do efeito SPR e geração do sinal adquirido pela câmera aquisição; e as lentes colimadoras, responsáveis pela focalização e ajuste do feixe luminoso. E sobre a peça P2, ver Figura 11, está localizado bio-chip, no qual está o biocatalizador e o material biológico sensível, e a célula de fluxo, que guia o líquido com a substância analisada para passar pelo bio-chip. E na peça P2 é localizada câmera.

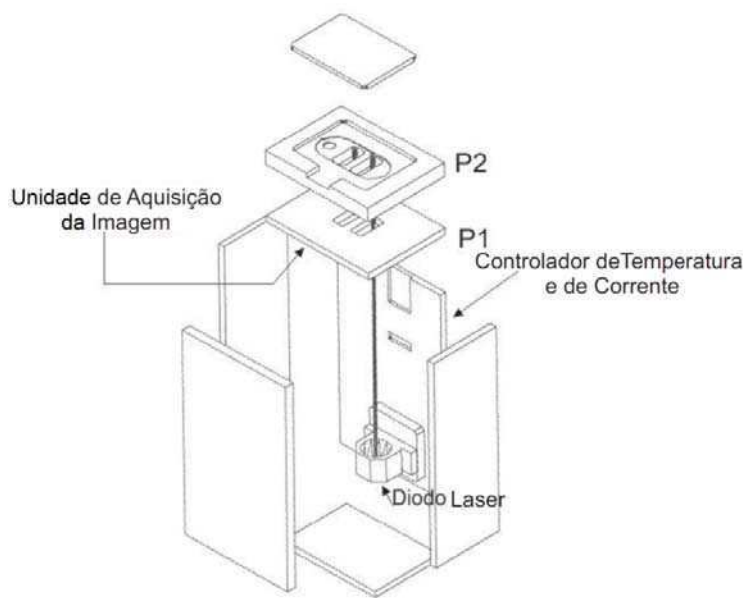


Figura 11. Estrutura metálica do Bio-sensor. (Souza Filho, 2006). [5]

Assim, o correto posicionamento e fixação de todos esses componentes nas peças metálicas, bem como a facilidade de substituição do bio-chip ou da célula de fluxo devem ser bem pensados para garantir erro mínimo. Pensando nesses problemas foi acrescentada a atividade 9 no plano de trabalho, esta atividade inclui também a pintura de todas as peças, já que a “cor metálica” do alumínio facilita a reflexão da luz, podendo influenciar no sinal captado pela câmera.

4 ATIVIDADES REALIZADAS

No plano de trabalho foi definido um conjunto de melhorias a serem realizadas, estas melhorias estão apresentadas nos Objetivos Específicos como atividades do estágio, mas para facilitar a leitura reorganizamos no Quadro 1 estas atividades.

<p>1 ATIVIDADES</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Estudar os bio-sensores SPR; 2. Controlador de corrente controlado por software; 3. Controlador de temperatura com ajuste da referência por software; 4. Implementação da aquisição da temperatura e da corrente no CAMBIO software; 5. Levantar a característica de comprimento de onda em função da temperatura e da corrente do laser; 6. Especificar uma nova camera: <ol style="list-style-type: none"> a. Procurar câmera por modulação de pulso ou com amostragem dupla correlacionada; 7. Especificar conversor AD; 8. Modificar a Unidade de Aquisição e Controle do CAMBIO para acrescentar memória externa; 9. Projetar melhorias na montagem mecânica: <ol style="list-style-type: none"> a. Pintura da estrutura metálica para evitar reflexão interna; b. Ajuste da posição da câmera; c. Melhorar o suporte do diodo laser para permitir o alinhamento e um melhor controle de temperatura; d. Substituir a colocação do biochip; e. Providenciar uma tampa adequada para a célula de fluxo; 10. Reproduzir o desenho da montagem no Inventor; 11. Implementar o ajuste polinomial no CAMBIO software e outros métodos de estimação do ângulo de ressonância; 12. Modelar o sistema através de software de simulação (COMSOL, programas ópticos ZEMAX, etc); 13. Analisar a variação da temperatura no analito durante a mudança de substâncias analisadas; 14. Controlar o DSP do OMAP através do Linux;

Quadro 1. Lista de atividades sugeridas para Estágio.

As atividades listadas são as principais melhorias necessárias ao sistema em questão, porém a execução de todas elas está além de um trabalho de Estágio, de forma que apenas algumas delas foram realizadas.

As atividades apresentadas neste capítulo são apenas as atividades realizadas, mesmo que incompletas, elas estão apresentadas na ordem em que foram realizadas, ver cronograma apresentado na Tabela 3, não na sequência numérica apresentada no Quadro 1.

Tabela 3. Cronograma das atividades realizadas.

Atividades/Mês	Outubro	Novembro	Dezembro	Janeiro	Fevereiro	Março
1	X	X		X		
2				X	X	
3						
4						
5		X	X			
6				X		
7						
8						
9		X				
10						
11						
12						
13						
14	X	X				
Elaboração do Relatório de Estágio						X

4.1 ATIVIDADES 1 E 14

Nos dois primeiros meses houve uma concentração de esforço no entendimento dos bio-sensores (Atividade 1): o que é e como funciona e principalmente no entendimento método SPR de interrogação angular. Este esforço se justifica dada a necessidade de conhecimento do sistema antes de atuar no mesmo.

Nesse período também foram alvos de estudo a solução encontrada por Carlos Alberto de Souza Filho para o Sistema Eletrônico de Aquisição e Processamento para Bio-sensores desenvolvido em seu mestrado, o que envolve as técnicas de sensoriamento e controle, o protocolo *Basic Transmission* (BT) que permite a comunicação serial do ADuC841 com a unidade de processamento (Computador Pessoal ou kit Innovator1510), o microcontrolador ADuC841 e sua arquitetura, as técnicas de ajuste polinomial e de cálculo do ângulo de refração.

Em paralelo também foi iniciado um estudo do OMAP1510, que é formado por um processador digital de sinais (DSP) da família TMS320C55x em conjunto com um TI enhanced ARM925. O ARM925 é utilizado para controlar funções de alto nível em interfaces com usuário e em sistemas operacionais, como Symbian, Windows CE, Linux, Palm OS e Nucleus. O OMAP tornaria o sistema totalmente portátil, pois o DSP é capaz de realizar tarefas que exigem um maior nível de complexidade como o

processamento de imagem, e o DSP também realiza as tarefas de processamento de uma maneira muito mais eficiente quanto ao consumo da bateria, o que permitiria uma maior autonomia. Por isso a atividade 14 seria a primeira a ser realizada, e iniciou-se configurando uma rede de comunicação do OMAP a um PC com Sistema Operacional Linux, mas a atividade 5, que será descrita a seguir, mostrou que o controle de temperatura e corrente elétrica são essenciais para o correto funcionamento do módulo, dessa forma a implementação desses controladores se tornou prioritária.

4.2 ATIVIDADE 5

Para realizar atividade 5 (Levantar a característica de comprimento de onda em função da temperatura e da corrente do *laser*) projetamos uma fonte de corrente controlada por tensão de 0 a 50mA com precisão de $0.5\mu\text{A}$ para que o diodo laser fosse excitado com uma corrente elétrica conhecida e precisa, além de evitar problemas de sobre-corrente no diodo *laser*, podendo danificá-lo.

O circuito da Figura 12 apresenta a fonte de corrente implementada, um seguidor de tensão com amplificador operacional aplica a tensão de entrada V_{in} em um dos terminais do resistor R1 de 100Ω ($V_e = V_{in}$) e no outro terminal do resistor um terra virtual ($V_o = 0$), também com amplificador operacional, assim temos uma corrente $I_{R1} = V_{in}/R1$, para o valor máximo de 5V em V_{in} tem-se $I_{R1} = 50\text{mA}$, sendo esta a mesma corrente que vai de I_{out} a I_{in} , independente da tensão. Os transistores no circuito permitem uma corrente acima da corrente máxima de operação dos amplificadores operacionais.

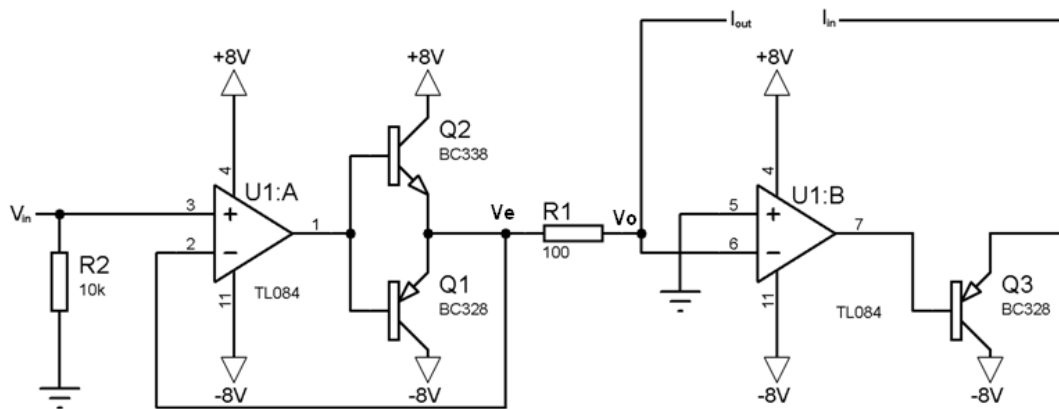


Figura 12. Circuito fonte de corrente controlada por tensão.

Os testes a seguir descritos foram realizados com o circuito da Figura 12 fornecendo a corrente elétrica ao diodo laser; medição de temperatura ambiente e da carcaça do diodo laser feita por termopares acoplados a um dispositivo de aquisição de dados da National Instruments USB-6210 (32 entradas analógicas de 16bits com taxa de até 400mil amostra por segundo) e aquisição de dados realizada pelo software LabVIEW; e leitura óptica realizada pelo espectrômetro USB4000 da Ocean Optics (detector TCD1304AP com leitura comprimento de onda de 200 a 1100nm com sensibilidade de 60fótons/count em 600nm e tempo de integração de 3,8ms a 10s) com aquisição de dados realizado pelo software *Spectra Suite*.

Os experimentos foram limitados pela potência luminosa máxima captada pelo espectrômetro, que é menor do que a máxima emitida pela fonte luminosa utilizada, o diodo *laser*. A partir de 24mA de alimentação o equipamento de medição já está saturado, a Figura 13 apresenta sete espectros do sinal luminoso do diodo *laser* obtidos com um tempo de integração de 5ms com resolução de aproximadamente 0,3nm.

Ainda na Figura 13 é perceptível que a partir de 20mA o aumento na potência luminosa emitida aumenta muito para um mesmo aumento da corrente elétrica, por isso admitimos que a corrente de *threshold* (I_{th}), valor a partir do qual o diodo *laser* está devidamente polarizado, se encontra nesta região: $20\text{mA} < I_{th} < 24\text{mA}$.

Uma possível fonte de erro para este experimento é o alinhamento e fixação da fibra óptica conectada ao equipamento da *Ocean Optics* com a luz emitida pelo diodo laser, que foi feito de maneira inapropriada.

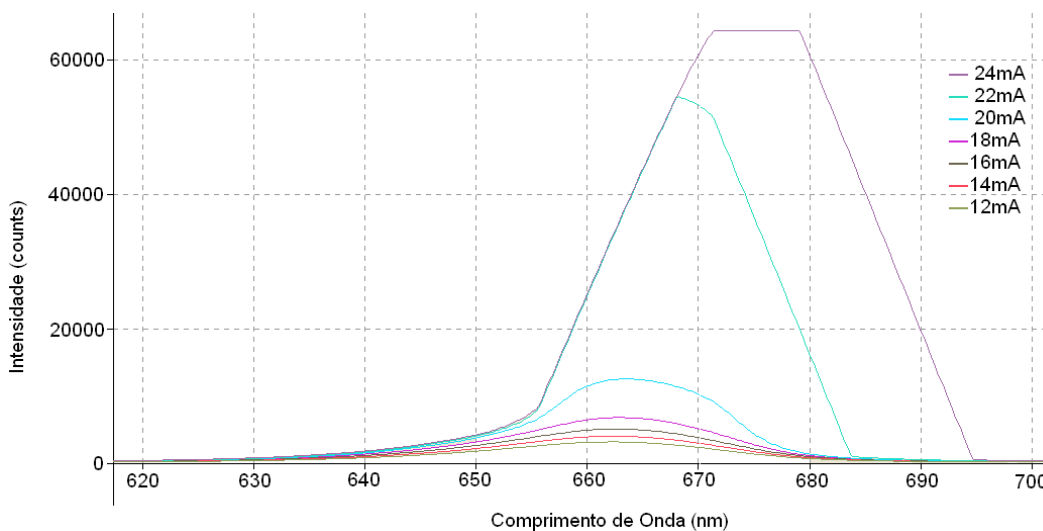


Figura 13. Espectros dos Sinais luminosos do diodo Laser e respectiva corrente de alimentação. tempo de integração de 5ms com resolução de aproximadamente 0,3nm.

A unidade de intensidade luminosa utilizada é o *count*, na frequência da luz estudada $1 \text{ count} = 60 \text{ fótons}$.

No primeiro momento a corrente elétrica foi mantida constante em 20mA, em um ambiente inicialmente a 20°C e temperatura da carcaça do diodo laser em 19°C, com o ar-condicionado desligado permitiu-se a temperatura aumentasse naturalmente por 1h enquanto a aquisição de dados ocorria, ao fim teste a temperatura ambiente e da carcaça do diodo mediam 30°C. A Figura 14 apresenta a variação do valor de pico do espectro obtido e do comprimento de onda no qual ocorre esse pico em função da temperatura. Este experimento deveria ser realizado com um módulo de Peltier³ variando a temperatura do diodo *laser*, mas este foi danificado durante os testes. Contudo a validade do experimento não foi comprometida, pois a variação gradual com a temperatura do ambiente é mais lenta (10° em 1h) que o módulo de Peltier (10° em 20min), assim as variações nos valores medidos do espectro luminoso e da temperatura não forma tão bruscas.

A Figura 14(b) mostra uma queda drástica da intensidade luminosa com a temperatura isso permite concluir que a excitação do diodo laser não depende apenas da corrente elétrica que o atravessa, mas também da temperatura

Apesar da corrente de excitação do diodo laser está abaixo da faixa de correntes em que se supõe que esteja I_{th} pode-se perceber uma grande variação tanto no comprimento de onda quanto na intensidade da luz emitida com a variação da temperatura, como esses valores não podem varia no método SPR de interrogação angular utilizado no sistema percebe-se uma grande necessidade de um controle adequado de temperatura.

A Figura 14 apresenta os resultados desse experimento em forma de gráficos. A análise dos experimentos só foi feita depois que todos os experimentos haviam sido realizados, por isso a corrente de excitação do diodo laser está abaixo de I_{th} , por isso o comprimento de onda do valor de pico não atingiu o valor esperado de 670nm, porém se aproximou do valor esperado com o aumento da temperatura. A Figura 14(a) mostra que devemos esperar uma variação da frequência com a temperatura, assim como uma queda na potência luminosa emitida quando a temperatura aumenta, ver Figura 14(b), ou seja, para manter a mesma intensidade luminosa a corrente elétrica deve aumentar com a temperatura.

³ O **efeito Peltier**, observado em 1834 por Jean Charles Athanase Peltier, é a produção de um gradiente de temperatura em duas junções de dois condutores (ou semicondutores) de materiais diferentes quando submetidos a uma tensão elétrica em um circuito fechado (consequentemente, percorrido por uma corrente elétrica).

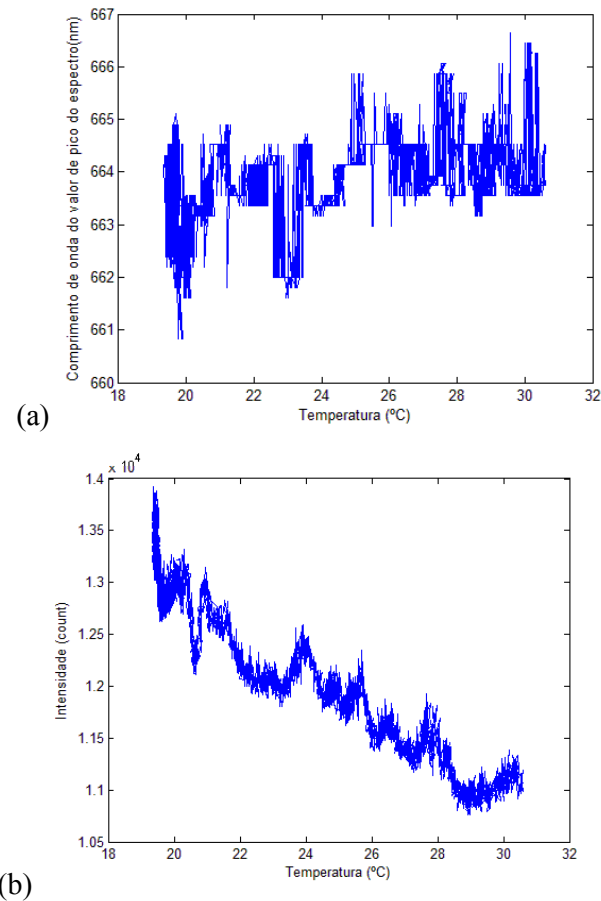


Figura 14. Curvas do (a) Comprimento de onda do valor de pico X temperatura e (b) Valor de pico X temperatura. Gráficos com 3340 medições realizadas a uma taxa aproximada de 9 amostras em 10 segundos.

No segundo momento a corrente de excitação foi variada de 0 a 50mA a um passo de 2mA, cada medição durando o mínimo possível para que a variação na temperatura fosse desprezível. Em cada medição observou-se principalmente o valor de pico da intensidade luminosa e o comprimento de onda no qual esse valor de pico ocorre, contudo a medição para valores de corrente acima de 22mA se mostraram sem sentido pois o equipamento de medição saturou. A Figura 15, obtida pela função *plot* do MatLab, apresenta as doze medições válidas (antes da saturação do equipamento). Como esperado os valores de intensidade máxima e comprimento de onda não são significativos para uma corrente de excitação inferior aos 22mA, valor estimado para I_{th} .

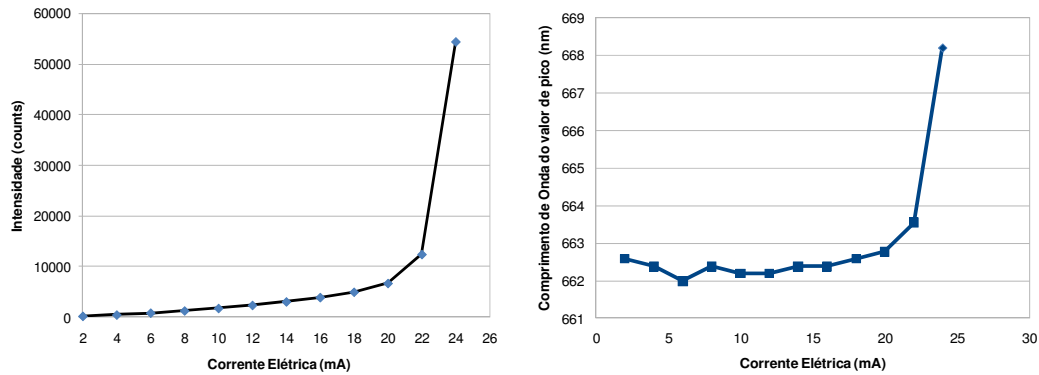


Figura 15. Curvas do (a) Comprimento de onda do valor de pico X corrente elétrica e (b) valor e Pico X Corrente Elétrica.

Os experimentos permitem concluir que corrente e temperatura variam a excitação do diodo laser, ou seja, a variação de um pode ser suprida pela variação do outro.

Sabendo que ao fixar a corrente elétrica e a temperatura de um diodo laser seu ponto de operação não deve variar; mas que não é possível fixar a temperatura sem o uso de um controlador, contudo a corrente não precisa ser controlada para ser fixa pode-se pensar que apenas o controlador de temperatura é necessário. Contudo, a atuação em temperatura é imbuída de um atraso e um controle da corrente bem projetado pode variar a mesma para suprir a variação de temperatura durante este atraso, mantendo constante o ponto de operação do diodo laser. Por isso é necessário um controlador de corrente.

4.3 ATIVIDADE 9

A primeira melhoria na montagem mecânica realizada foi a pintura de toda a estrutura metálica de preto, isso foi feito com tinta spray na peça aquecida pelo Sol. A pintura foi antecedida por um lixamento com lixada d'água em uma única direção. Além de evitar reflexão da luz essa pintura resultou em um melhor aparência externa do módulo apresentado na Figura 11.

Um novo suporte para o diodo *laser* foi desenhado, no suporte antigo há problemas de alinhamento da fonte luminosa com o foco das lentes colimadoras. Outro problema era a localização do módulo de Peltier (módulo gerador do efeito Peltier utilizado como atuador do controlador de temperatura), responsável pela atuação do controlador de temperatura, estar localizado na lateral do suporte, este fica na lateral do

suporte e o diodo, cuja temperatura se desejava controlar, está posicionado na parte traseira do suporte, assim a atuação do módulo de Peltier de espelhava por toda a peça antes de influenciar a temperatura do diodo laser, gastando tempo e energia, que é limitada em um módulo portátil. No suporte desenhado, apresentado na Figura 16, o módulo de Peltier se localiza na parte traseira do suporte, próximo ao diodo *laser*, o que melhora sua atuação. O novo posicionamento do módulo de Peltier gera um problema por bloquear a saída dos terminais do diodo laser, isto é resolvido com o pequeno orifício atrás da peça. A confecção desta peça deve ser feita bem medida para que o laser esteja alinhado com o foco das lentes, evitando que o suporte das lentes também sofra alteração.

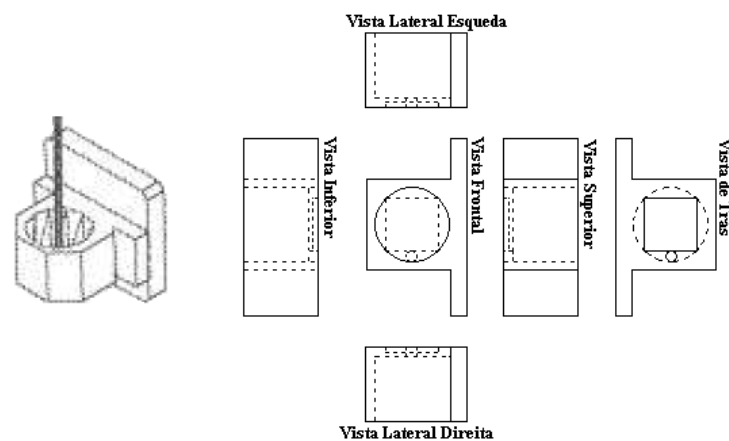


Figura 16. Novo suporte para o diodo laser. Imagem em 3D e vistas.

Também foram projetadas melhorias na peça P2 da Figura 11, na peça antiga haviam problemas de fixação da célula de fluxo, que ficava solta mesmo depois de tampado o módulo, este problema foi resolvido fixando molas na célula, dessa forma as molas fixarão a célula quando a tampa for fechada. Ainda na peça P2 havia problemas de pouca praticidade na substituição do bio-chip, a peça desenhada, ver Figura 17, o bio-chip será colocado lateralmente, no estilo gaveta, de forma que não será necessário desparafusar a tampa e retirar a célula de para trocar o bio-chip.

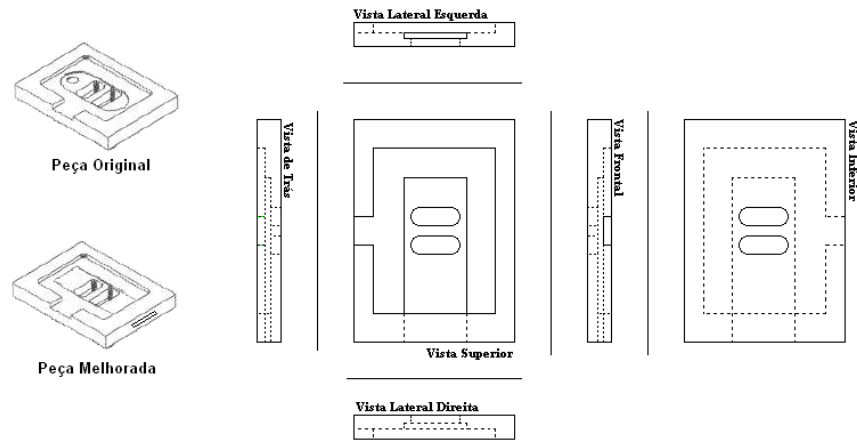


Figura 17. Novo suporte do bio-chip e célula de fluxo. Imagem 3D e vistas.

4.4 ATIVIDADE 6

A atividade 6 (Especificar uma nova câmera) envolve escolher uma câmera por modulação de pulso ou um câmera com amostragem dupla correlacionada, para isso devemos apresentar os dois tipos de câmera.

A câmera por modulação de pulso não necessita de uma alta resolução da imagem, isso permite a implementação de circuitos para reduzir a influência de um desvio de ajuste do fotodetector, a influência do meio em que está inserido e a influência da corrente escura antes da integração. Esse tipo de câmera tem apenas uma tensão de saída, que pode ser diretamente correlacionada com o índice de refração, e com a concentração do analito. Essa câmera funciona realizando multiplicações ponderadas dos pulsos gerados pela integração das correntes dos fotodiodos por pulsos correspondentes a outras componentes do espectro do sinal SPR [8]. Porém este tipo de câmera é adequada para ser utilizada com o método SPR com interrogação de comprimento de onda, que não é o caso.

O circuito de amostragem dupla correlacionada (*Correlated Double Sample – CDS*) é um circuito simples acoplado à cada fotodiodo que subtrai o nível de reset do nível de sinal medido, isso suprime o ruído de baixa frequência [9] e o ruído de reset. Esse circuito apesar de simples deve ser bem ajustado para todos os *pixels* da câmera.

Por incompatibilidade do sistema projetado com a câmera por modulação de pulso, então o sensor de imagem a ser utilizada deve ser uma câmera de CMOS de amostragem dupla correlacionada.

4.5 ATIVIDADE 2

Este controlador inicialmente seria implementado por software. Para isso bastaria realizar a atividade 4 (Implementação da aquisição da temperatura e da corrente no CAMBIO software) através do Conversor Analógico-Digital (C A/D na Figura 18) e com poucos cálculos o microcontrolador ADuC841, através de um Conversor Digital Analógico (C D/A na Figura 18), forneceria a tensão de entrada para a fonte de corrente controlada por tensão (In = 0-5V; Out: 0-50mA), projetada para realização da atividade 5, que excitaria o diodo laser, ver Figura 18. Porém uma análise no datasheet do ADuC mostrou que atraso dos conversores analógico-digital (entrada do ADuC) e digital-analógico (saída do ADuC) é superior ao atraso aceitável de controle. Então o controlador será implementado por *hardware*.

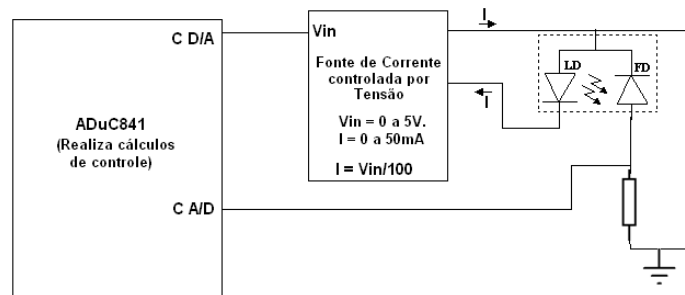


Figura 18. Controlador PI implementado por *Software* no ADuC841.

A realimentação do controlador será feita através do sensor photodiodo já acoplado ao diodo laser, ver Figura 19.a, com um amplificador de diferença de ganho unitário, ver Figura 19.b, foi montado com o Amp-Op TL084. Montado o circuito a tensão de resposta V_{out} foi medida variando a tensão de entrada da fonte de corrente linearmente de 0 a 5V. A tensão de saída obtida também varia linearmente de 0 a 15mV, como mostra a Figura 20, como a tensão foi medida sobre um resistor de $1k\Omega$, temos uma corrente variando de 0 a $15\mu A$. Dessa forma tem-se que o diodo laser com o circuito mostrado na Figura 19 é a planta a ser controlada representada por um ganho $K_{LD} = V_{out_{Max}}/V_{in_{Max}} = 15mV/5V = 3m$.

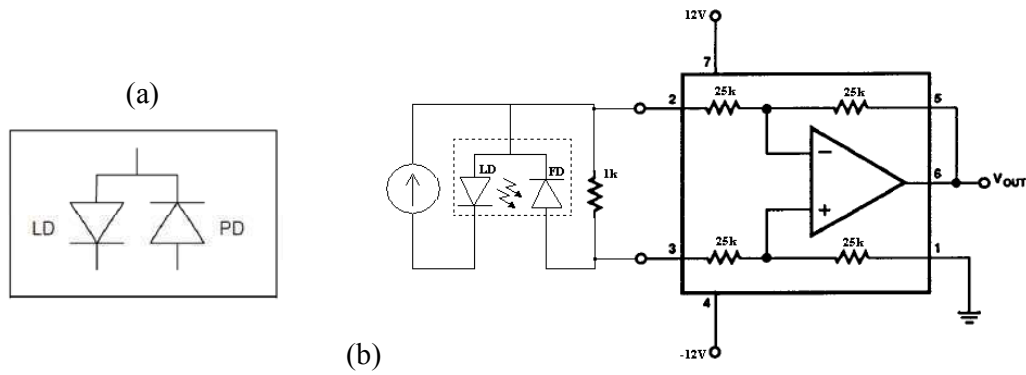


Figura 19. (a) Diodo laser utilizado, pino comum: fotodiodo (PD) catodo – diodo laser (LD) anodo. (b) Circuito utilizado para mediação da corrente resposta do fotodiodo.

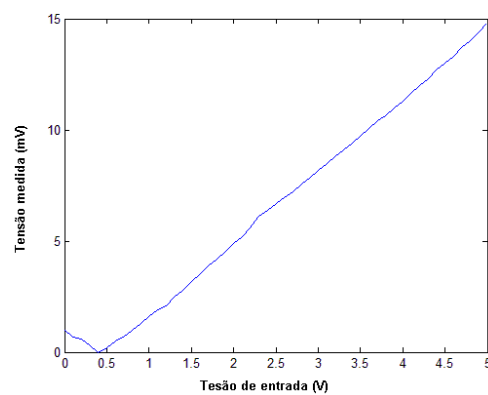


Figura 20. Caracterizando a resposta do fotodiodo. A variação da tensão entrada de 0-5V implica em uma variação na corrente do diodo de 0-50mA.

Sabendo que foi aplicada uma rampa na entrada e obteve-se a saída da Figura 20, pode-se estimar a planta por um K_{LD} , o que resulta no problema de controle apresentado na Figura 21.

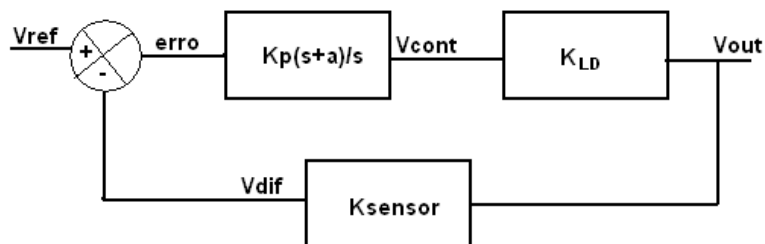


Figura 21. Controlador PI, diagrama de blocos.

A função de transferência da planta da Figura 21 é:

$$\frac{V_{out}}{V_{ref}} = \frac{K_p \cdot K_{LD} \cdot \frac{s+a}{s}}{1 + K_{sensor} \cdot K_p \cdot K_{LD} \cdot \frac{s+a}{s}}$$

$$\frac{V_{out}}{V_{ref}} = \frac{K_p \cdot K_{LD} (s + a)}{s + K_{sensor} \cdot K_p \cdot K_{LD} \cdot (s + a)} \quad \text{Eq. (4)}$$

Decidiu-se utilizar uma tensão de *offset* máxima de 2,5V, pois dessa forma podemos utilizar uma alimentação única de 12V e 0V, já existente no sistema, assim região de trabalho do amplificador operacional (até 2,5V) não ficaria próxima à sua tensão de saturação (próximo a 5V).

Antes de comparar com $V_{ref,m\acute{a}x} = 2,5V$ a tensão de $V_{out,m\acute{a}x} = 15mV$ é necessário um ganho K_{sensor} , calculado em 166,66, foi utilizada uma configuração não inversora, ver Figura 23, para evitar o uso de mais um como inversor. Dessa forma foi possível utilizar apenas quatro Amp-Ops, ou seja, apenas um CI TL084.

$$V_{dif} = V_{out} * \left(\frac{165,66k\Omega}{1k\Omega} + 1 \right) \quad \text{Eq. (5)}$$

$$K_{sensor} = 166,66$$

Assim, $K_{sensor} \cdot K_{LD} = 0,5$. Portanto o ganho de malha fechada por ser expresso como:

$$\begin{aligned} \frac{V_{out}}{V_{ref}} &= \frac{K_p \cdot K_{LD}(s + a)}{s + 0,5 \cdot K_p \cdot (s + a)} \\ &= \frac{K_p \cdot K_{LD} \cdot s + K_p \cdot K_{LD} \cdot a}{(0,5 \cdot K_p + 1) \cdot s + 0,5 \cdot K_p \cdot a} \end{aligned} \quad \text{Eq. (6)}$$

Escolhendo $0,5 \cdot K_p \gg 1$, obtém-se:

$$\frac{V_{out}}{V_{ref}} \cong \frac{K_p \cdot K_{LD}(s + a)}{0,5 \cdot K_p \cdot (s + a)} = \frac{K_{LD}}{0,5} = 0,006 \quad \text{Eq. (7)}$$

Ou seja, desde que esteja na condição imposta acima o valor K_p pode ser qualquer um. Assim o valor escolhido foi: $K_p = 200$. Também foi escolhido o valor de $a = 0,45$, obtendo um atraso de 2,2segundos, como mostra a Figura 22, onde pode-se ver a resposta ao degrau do controlador projetado.

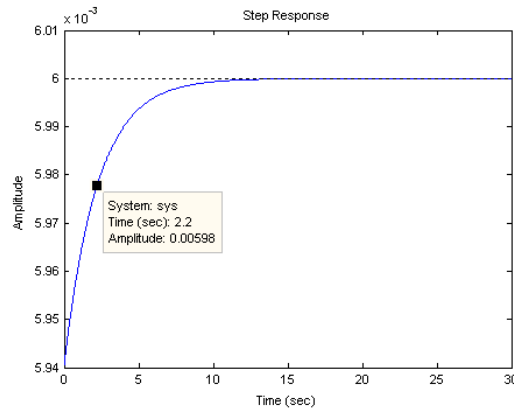


Figura 22. Resposta Ao degrau do controlador projetado.

Para minimizar o uso de Amp-Ops o erro foi calculado negativamente, de forma a evitar o uso de um inversor, como mostra o circuito da Figura 23.

$$erro = V_{dif} - V_{ref} \quad \text{Eq. (8)}$$

Assim

$$V_{out} = - \left(\frac{10k\Omega}{50\Omega} \cdot \frac{s + \frac{1}{10k \cdot 220\mu}}{s} \right) \cdot erro = - \left(100 \cdot \frac{s + \frac{1}{2,2}}{s} \right) \cdot (V_{dif} - V_{ref})$$

$$V_{out} = 100 \cdot \frac{s + 0,45}{s} \cdot (V_{ref} - V_{dif}) \quad \text{Eq. (9)}$$

$$K_p = 200; \quad a = 0,45.$$

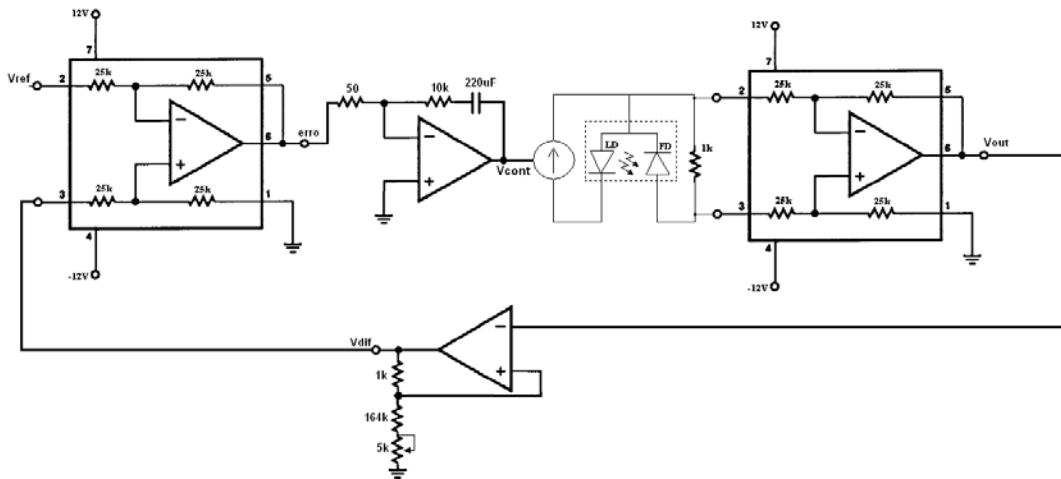


Figura 23. Circuito do controlador PI de corrente.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As melhorias mecânicas, como pintura e desenho de novas peças, e elétricas, controle de corrente elétrica, implementadas foram poucas se compararmos o total de melhorias necessárias, e gastou-se um tempo demasiado longo para sua realização, pois foram enfrentados problemas de ausência de material, como o diodo *laser* a ser controlado que só foi adquirido no fim de janeiro, além de problemas de comunicação e incompatibilidade de horários com o outro integrante da equipe de trabalho. Contudo as melhorias implementadas são significativas, pois problemas como a reflexão da luz dentro do módulo e o mau alinhamento do laser eram grandes fontes de ruído, problemas estes que foram alvos das atividades realizadas, sendo corrigidos ou amenizados.

Contudo, o trabalho não foi finalizado, o estágio na área de bio-sensores serviu como incentivo à permanência na área durante um curso de mestrado que também será realizado na UFCG. Este terá como primeira atividade finalizar o Sistema Eletrônico de Aquisição e Processamento para Bio-sensores alvo deste relatório.

BIBLIOGRAFIA

1. LOWE, C. R. Overview of Biosensor and Bioarray. In: MARKS, R. S., et al. **Handbook of Biosensors and Biochips**. Cambridge, UK.: Wiley-Interscience, 2007. p. 1500.
2. KUBOTA, L. T. Unicamp. Biossensor para salicilato. **Redetec - Rede de Tecnologia do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<http://www.redetec.org.br/inventabrasil/kubota.htm>>. Acesso em: 27 Fevereiro 2011.
3. MOREIRA, C. D. S. **Projeto de um amostrador automático (autosampler) de baixo custo aplicado a biossensores baseados na ressonância de plásmons de superfície (SPR)**. Campina Grande. 2009.
4. CHEN, J.-S.; ZHANG, L.-S.; WANG, J.-L. **A Novel Biosensor for the Rapid Determination of Biochemical Oxygen Demand**. Beijing, China, 2007.
5. SOUZA FILHO, C. A. D. **Desenvolvimento de um Sistema Eletrônico de Aquisição e Processamento para Biossensores**. Campina Grande - PB. 2006.
6. WEETALL, H. H. Transducer Technologies for Biosensors and Bioarray Technologies. In: MARKS, R. S., et al. **Handbook of Biosensors and Biochips**. Cambridge, UK: Wiley-Interscience, 2007.
7. MOREIRA, C. D. S. **Projeto de um biossensor baseado na ressonância de plásmons de superfície (SPR), para fontes monocromáticas ou policromáticas**. Campina Grande. 2008.
8. HANSEN, L. E.; JOHNSTON, M. M. W.; WILSON, D. M. Pulse-based Interface Circuits for SPR Sensing Systems. **IEEE International Symposium on Circuits and Systems, vol 2**, Seattle, Washington, 2, 2005. pp. 1762-1765.
9. JUN, G. et al. Correlated double sample design for CMOS image readout IC. **Solid-State and Integrated Circuits Technology, 2004. Proceedings. 7th International Conference on. vol 2**, Beijing, China, 13 Junho 2005. pp.1437 - 1440.
10. ABDULHALI, I.; ZOUROB, M.; LAKHTAKIA, A. Overview of Optical Biosensing Techniques. In: MARKS, R. S., et al. **Handbook of Biosensors and Biochips**. Cambridge, UK: Wiley-Interscience, 2007.
11. DAVIS, F.; COLLYER, S. D.; HIGSON, S. P. J. Overview of Modern Analytical Needs. In: MARKS, R. S., et al. **Handbook of Biosensors and Biochips**. Cambridge, UK: Wiley-Interscience, 2007.
12. THORLABS. **Thorlabs Model LD1100 Constant Power Laser Driver**. Route 206N Newton, NJ 07860 USA, 2004.