CELSO MANOEL DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO FILTRO ÓPTICO DE
INTERFERÊNCIA VARIÁVEL PARA DETECTORES DE ALTA
RESOLUÇÃO ESPECTRAL E BIOSSENSORES**

São Paulo

2016

CELSO MANOEL DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO FILTRO ÓPTICO DE
INTERFERÊNCIA VARIÁVEL PARA DETECTORES DE ALTA
RESOLUÇÃO ESPECTRAL E BIOSSENSORES**

**Tese apresentada à Escola Politécnica da
Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em Ciências.**

**São Paulo
2016**

CELSO MANOEL DA SILVA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO FILTRO ÓPTICO DE
INTERFERÊNCIA VARIÁVEL PARA DETECTORES DE ALTA
RESOLUÇÃO ESPECTRAL E BIOSSENSORES**

**Tese apresentada à Escola Politécnica da
Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em Ciências.**

Área de Concentração:

Engenharia Elétrica - Microeletrônica

Orientador: Prof. Dr. Roberto Koji Onmori

São Paulo

2016

Este exemplar foi revisado e corrigido em relação à versão original, sob responsabilidade única do autor e com a anuência de seu orientador.

São Paulo, 03 de junho de 2016

Assinatura do autor: _____

Assinatura do orientador: _____

Catlogação-na-publicação

da Silva, Celso Manoel

DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DO FILTRO ÓPTICO DE INTERFERÊNCIA VARIÁVEL PARA DETECTORES DE ALTA RESOLUÇÃO ESPECTRAL E BIOSENSORES / C. M. da Silva -- versão corr. -- São Paulo, 2016. 172 p.

Tese (Doutorado) - Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.
Departamento de Engenharia de Sistemas Eletrônicos.

1.Detectores de alta resolução espectral 2.Filtros de interferência variável
3.Técnica de deposição de filmes finos 4.Biossensores "chip-sized"
5.Espectrofotometria I.Universidade de São Paulo. Escola Politécnica.
Departamento de Engenharia de Sistemas Eletrônicos II.t.

Agradecimentos:

Ao professor Dr. Roberto Koji Onmori pela confiança, incentivo e pela dedicada orientação neste trabalho, bem como pela sua amizade.

Ao Dr. Niklaus Ursus Wetter, diretor do Centro de Laser e Aplicações (CLA) do IPEN-Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, por possibilitar o uso das instalações do Laboratório de Óptica Aplicada inclusive da evaporadora e-Beam da marca Balzer e pelo seu destacado espírito de colaboração acadêmica; ao Dr. Nilson Dias Vieira Junior, pesquisador do IPEN, pelo empenho e zelo na manutenção da evaporadora.

Ao professor Marcelo Carreno, POLI-LME, e toda a sua equipe pela inestimável ajuda na confecção dos microcanais; em geral a todos os técnicos do LSI, especialmente aos Srs. Carlos Alberto Santos Ramos e ao Sr. Alexandre Lopes, pela relevante dedicação e suporte.

Ao Dr. Manfredo Tabackinics, pela disponibilização de recursos do LAMFI especialmente do equipamento acelerador de íons; a todo o pessoal do LAMFI, pela condução dos trabalhos de medidas, ajuda nos ajustes e simulações dos dados de RBS e pela realização da tarefa de transcrição de desenhos para o ACAD, que foi dividida entre o Sr. Renan Ferreira de Assis, LAMFI, e o Sr. Rafael Minatogau Ferro, mestrando do IFUSP, .

Aos demais professores e pesquisadores da POLI-Elétrica/PSI/LME, IF-USP, IPEN, IPT e a todos os meus colegas e amigos da USP, especialmente todos aqueles cujos nomes foram omitidos nesta lista, pelos momentos de convivência, argumentação e cooperação científica.

Ao Sr. Alessandro Alves de Souza, do Laboratório Multidisciplinar da UNISA-Universidade Santo Amaro, pelo inestimável apoio logístico e material; a professora Daniela Fiorini da Silva, doutoranda do grupo interunidades IF-FE-USP e Srta. Natália Fiorini da Silva, mestranda do IPEN, pela imprescindível ajuda e preciosa companhia.

A minha companheira e esposa, Maria Luiza Fiorini da Silva; aos meus filhos, Daniela, Natália e Tiago; minha neta, Lorena Alves Fiorini; minha genitora, Constantina Maria da Silva e toda a minha família pela compreensão, inspiração e incentivo.

A todas as pessoas que souberam compartilhar, a sua inteligência, o seu esforço e o seu tempo, pois foi desta boa vontade que nasceu e perseverou em mim a determinação em conduzir e completar este trabalho.

Resumo

O presente trabalho está fundamentado no desenvolvimento de uma metodologia e/ou uma tecnologia de obtenção e caracterização de filtros ópticos de interferência de banda passante variável [C.M. da Silva, 2010] e de banda de corte variáveis, constituídos por refletores dielétricos multicamadas de filmes finos intercalados por cavidades de Fabry-Perot não planares com espessuras linearmente variáveis, que apresentam a propriedade do deslocamento linear da transmitância máxima espectral em função da posição, isto é, um Filtro de Interferência Variável (FIV). Este método apresenta novas e abrangentes possibilidades de confecção de filtros ópticos de interferência variável: lineares ou em outras formas desejadas, de comprimento de onda de corte variável (passa baixa ou alta) e filtros de densidade neutra variável, através da deposição de metais, além de aplicações em uma promissora e nova área de pesquisa na deposição de filmes finos não uniformes.

A etapa inicial deste desenvolvimento foi o estudo da teoria dos filtros ópticos dielétricos de interferência para projetar e construir um filtro óptico banda passante convencional de um comprimento de onda central com camadas homogêneas. A etapa seguinte, com base na teoria óptica dos filmes finos já estabelecida, foi desenvolver a extensão destes conhecimentos para determinar que a variação da espessura em um perfil inclinado e linear da cavidade entre os refletores de Bragg é o principal parâmetro para produzir o deslocamento espacial da transmitância espectral, possibilitando o uso de técnicas especiais para se obter uma variação em faixas de bandas de grande amplitude, em um único filtro. Um trabalho de modelagem analítica e análise de tolerância de espessuras dos filmes depositados foram necessários para a seleção da estratégia do "mascaramento" seletivo do material evaporado formado na câmara e-Beam (*elétron-Beam*) com o objetivo da obtenção do filtro espectral linear variável de características desejadas. Para tanto, de acordo com os requisitos de projeto, foram necessárias adaptações em uma evaporadora por e-Beam para receber um obliterador mecânico especialmente projetado para compatibilizar os parâmetros das técnicas convencionais de deposição com o objetivo de se obter um perfil inclinado, perfil este previsto em processos de simulação para ajustar e calibrar a geometria do obliterador e se obter um filme depositado na espessura, conformação e disposição pretendidos. Ao final destas etapas de modelagem analítica, simulação e refinamento recorrente, foram determinados os parâmetros de projeto para obtenção de um determinado FIV (Filtro de Interferência Variável) especificado.

Baseadas nos FIVs muitas aplicações são emergentes: dispositivos multi, hiper e ultra espectral para sensoriamento remoto e análise ambiental, sistemas *Lab-on-Chip*, biossensores, detectores *chip-sized*, espectrofotometria de fluorescência *on-chip*, detectores de deslocamento de comprimento de onda, sistemas de interrogação, sistemas de imageamento espectral, microespectrofotômetros e etc.

No escopo deste trabalho se pretende abranger um estudo de uma referência básica do emprego do (FIV) filtro de interferência variável como detector de varredura de comprimento de ondas em sensores biológicos e químicos compatível com pós processamento CMOS.

Um sistema básico que é constituído por um FIV montado sobre uma matriz de sensores ópticos conectada a um módulo eletrônico dedicado a medir a intensidade da radiação incidente e as bandas de absorção das moléculas presentes em uma câmara de detecção de um sistema próprio de canais de microfluidos, configurando-se em um sistema de aquisição e armazenamento de dados (DAS), é proposto para demonstrar as possibilidades do FIV e para servir de base para estudos exploratórios das suas diversas potencialidades que, entre tantas, algumas são mencionadas ao longo deste trabalho. O protótipo obtido é capaz de analisar fluidos químicos ou biológicos e pode ser confrontado com os resultados obtidos por equipamentos homologados de uso corrente.

Palavras Chaves: Detectores de alta resolução espectral, filtros de interferência variável, Técnica de deposição de Filmes Finos, Biossensores "chip-sized", espectrofotometria.

Abstract

This work presents the development of a method to obtain and characterize a variable interference optical band pass filter, made up of a number of thin films forming dielectrical reflectors intercalated by non flat Fabry-Perot cavities whose thickness varies linearly. These filters present the propriety of a linear variation in the maximum spectral transmittance as a function of the position in the filter, for this reason this is called Variable Interference Filter (VIF). This method allows of manufacturing linear interference filters or any other function desired, variable cut wavelength (low or high pass) and variable neutral density filters by means of metallic depositions.

The first step in this work was to design and built a conventional filter, with homogeneous layers and a fixed central wavelength. The following step was, using basics of the Optical theory of thin films, introduce the variation in the thickness of the layers in a linear inclined outline. Accordingly with the design requirements, it was made some adaptations in an e-beam evaporator (electron-beam), adding a mechanical obliterators adjusted with series of depositions and characterizations of a single layers in order to find a linearly inclined outline. In the end of this step it was designed and built the specified VIF.

It is also described a possible application of this VIF: a multispectral device for biological analysis. Among many applications, others can be cited, such as: Lab-on-Chip systems, biosensors chip-sized detectors, on-chip fluorescence spectrometry, shift wavelength detectors, interrogation systems, environmental analysis systems, etc.

The scope of this work covers the study of variable interference filters as a wavelength scanning detector in biological and chemical sensors compatible with CMOS post-processing. To demonstrate the viability, and enable the exploration of other applications, it is proposed a basic system composed of a VIF, mounted on top of a matrix of sensors connected to a dedicated electronic module, to measure and store the intensity of the incident radiation data and the absorption spectra of molecules present in a detection chamber of a microfluidic system. Other applications of this basic structure are mentioned. This prototype is aimed to analyze biological fluids and results will be compared with results obtained using standard commercial instruments.

Key Words: High spectral resolution detectors, Linear Variable Filters , Thin Films Deposition Technique, Biosensors chip-sized, spectrophotometry.

Listas de Abreviaturas

ADC	<i>Analog Digital Converter</i>
ADN	Ácido Desoxirribonucleico (DNA)
APD	<i>Avalanche Photodiode</i> (Fotodiodo de efeito avalanche)
AR	Anti Reflector Coating
BLIP	<i>Background Limited Infrared Photodetect</i>
CCD	<i>Charge Coupled Device</i> (Dispositivo de Carga Acoplado)
CFIV	Circular filtro de interferência variável
CISC	<i>Complex Instruction Set Computer</i>
CMOS	<i>Complementary metal oxide semiconductor</i>
CVD	<i>Chemical Vapor Deposition</i>
DAC	<i>Digital Analog Converter (ADC)</i>
DAS	<i>Data Acquisition System</i>
FBG	<i>Fiber Bragg Grating</i>
FIV	Filtro de interferência variável
FOV	<i>Field of view</i> (campo de visão)
FP	Fabry-Perot
FWHM	<i>Full width at half maximum</i> (Largura total a meia altura)
HPF	High Pass Filter
HWOT	<i>Half-wave optical thickness</i> (espessura óptica meia onda)
IR	Infra Red (infravermelho)
LASER	<i>Light Amplification through Stimulated Emission of Radiation</i>
LF	<i>Line Filter</i>
LFIV	Linear filtro de interferência variável
LIVF	<i>Linear interference variable filter</i>
LPF	<i>Low Pass Filter</i>
MEMS	<i>Micro Electro-Mechanical Systems</i>
NEP	<i>Noise equivalent power</i>
NIMs	Metamateriais de índice negativo
PC	<i>Photonic Crystal</i>
PD	<i>Photodiode</i>
PDA	<i>Photodiode Array</i>
PGA	Amplificador de ganho programável
<i>Pixel</i>	<i>Picture e Element</i> (aglutinação de palavras)
PVD	<i>Physical Vapor Deposition</i>
QWOT	<i>Quarter-wave optical thickness</i> (espessura óptica quarto de onda)
RBS	Retroespalhamento de Rutherford
RISC	<i>Reduced Instruction Set Computer</i>
SPR	<i>Surface Plasmon Resonance</i>
VIF	<i>Variable interference filter</i>
VLSI	<i>Very Large integrations scale</i> (integração em muito alta escala)
WDXRF	Fluorescência de raios X
WDXRFS	Fluorescência de raios X por dispersão de comprimentos de onda
SNR	Signal-to-noise ratio (razão sinal-ruído)
VNDF	Filtro Variável de Densidade Neutra (<i>neutral density filter</i>)

Lista de símbolos

Pg.	Simbolo	Descrição
23	S/N	<i>Signal-to-noise ratio</i> (SNR - razão sinal ruído)
47	v	Velocidade em m/s
47	ρ	Densidade em Kg/m ³
47	L_p	Distância característica interna do sistema de microcanais
47	R_e	Número de Reynols
48	J	Fluxo das moléculas dado em partículas/(m²s) ,
48	T_D	Tempo médio para a difusão
48	D	Coeficiente de difusão em m ² /s
48	C	Concentração das moléculas em partículas/m³
48	T_D	Tempo de difusão
47	ν	Viscosidade em N s/m ²
50	K_a	Constante de associação
50	K_d	Constante de dissociação
50	V_d	Taxa da reação para uma dissociação
51	nm	Nanômetro
53	eV	Elétron Volt - unidade de medida de energia
53	w	Comprimento da região de depleção
53	λ_c	Comprimento de onda de corte
53	h	Constante de Planck
53	ε_g	Energia de <i>gap</i>
53	c	Velocidade da luz no vácuo
54	D^*	Detectividade (chamado D-estrela)
54	G	Fator de ganho interno do fotodetector
58	R_d	Definição ou resolução
58	R_d	Resolução - critério Rayleigh
63	E	Campo Elétrico
63	H	Campo Magnético
63	ε	Permeabilidade magnética
63	μ	Permissividade elétrica
64	n	Índice de refração
65	TE	Ondas elétricas transversais
65	TM	Ondas magnéticas transversais
66	k	Número de onda
67	A_0	Amplitude de uma onda plana
67	k_{jz}	Vetor de onda local
68	r	Coeficiente da amplitude de reflexão
68	t	Coeficiente da amplitude de transmissão
68	R	Refletância de espécimes e Refletividade de material puro
68	T	Transmitância (espécimes) e Transmissividade (material puro)
69	A	Absorbância
69	P_o	Potência óptica incidente (fluxo de radiação transportada)

70	Λ	Espessura da célula unitária
70	a	Espessura do material A
70	b	Espessura do material B.
71	$\det \mathbf{T}$	Determinante da matriz $\mathbf{T}$
71	$tr \mathbf{T}$	Traço da matriz $\mathbf{T}$
73	ϕ_1	Ângulo do raio transmitido
74	λ_0	Comprimento de onda da luz no vácuo
74	δ_1	Mudança de fase do feixe de luz ao atravessar a película
74	ρ	Razão da amplitude da luz refletida pela incidente
74	τ	Razão da amplitude da luz transmitida pela incidente
75	D	Espessura óptica do filme
77	y_j	Admitância óptica da camada “j”
77	y_{fs}	Admitância óptica no vácuo
77	k	Coefficiente de extinção
78	y_{in}	Admitância do meio para o qual a luz entra
78	y_{out}	Admitância do meio para o qual a luz sai
78	M_j	Matriz característica
79	λ_0	Comprimento de onda de referência
82	$U(r)$	Amplitude complexa de uma O.E. plana
83	φ	Deslocamento de fase
83	ν	Frequência da onda
83	v_m	Velocidade da luz no meio
86	ζ	Fator complexo
86	F	<i>Finesse</i> (finura)
86	I_R	Intensidade no ressonador
86	I_o	Intensidade da radiação incidente
86	I	Intensidade da radiação transmitida
87	FSR	Faixa espectral livre (<i>Free spectral Range</i>)
87	$T_R(\nu)$	Intensidade transmitida em função da frequência do ressonador
88	R_{FP}	Resolução do interferômetro Fabry-Perot
90	Al	Alumínio
90	α	Coefficiente de absorção da substância
92	n_H	Índices de refração do meio H, camada com alto n
92	n_L	Índices de refração do meio L, camada com baixo n
95	Å	Angstrom (<i>Ångström</i>)
95	$I_{1 \times n}$	Correntes de saída do espectrofotômetro
97	C_{nm}	Matriz de calibração
104	θ	Ângulo entre PK e Z
104	α	Ângulo polar de K
104	ϕ	Ângulo azimutal da rotação da fonte em torno de Z
104	ϕ'	Ângulo azimutal da rotação do substrato em torno de Z
104	θ	Ângulo entre PK e ñ

104	$O(0,0,0)$	Centro de coordenadas
104	L	Distância OP
104	r	Distância PK
104	K	Ponto arbitrário no substrato
104	$P(x,y)$	Posição da fonte
104	R	Raio definido pela posição do suporte
104	$\hat{n}$	Vetor normal em K
117	α_{esp}	Razão espectral (Gradiente espectral)
126	m	Metro
126	μm	Micrometro
130	ϵ	Absortividade molar dos absorvedores
130	N	Densidade numérica dos absorvedores
132	l	Comprimento do caminho óptico
139	$l(x)$	Posição na dimensão x
143	V_{esc}	Tensão analógica na saída na condição “escura”
143	V_s	Tensão analógica na saída
143	μJ	Micro Joule
130	σ	Seção de choque de absorção
143	E_e	Irradiância incidente
143	R_e	Responsividade
143	t_{int}	Tempo de integração

Índice

1	INTRODUÇÃO.....	1—21
1.1	MOTIVAÇÃO E OBJETIVOS	1—27
1.1.1	<i>Tópicos abordados e desenvolvidos neste trabalho .....</i>	<i>1—27</i>
1.2	ANÁLISE DE FLUIDOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS	1—28
1.2.1	<i>Conceito de fluido biológico .....</i>	<i>1—28</i>
1.2.2	<i>Biomoléculas medidas nos fluidos biológicos .....</i>	<i>1—28</i>
1.2.3	<i>Laboratórios de análises clínicas.....</i>	<i>1—29</i>
1.2.4	<i>Microsistemas de análise de fluidos biológicos.....</i>	<i>1—32</i>
1.2.5	<i>Microsistemas de análise de fluidos biológicos: Estado da arte .....</i>	<i>1—34</i>
1.2.6	<i>Conceito de microsistema de fluidos biológicos.....</i>	<i>1—41</i>
1.2.7	<i>Microsistema laboratorial: EspectroLab.....</i>	<i>1—42</i>
1.2.8	<i>Microsistemas de microfluidos .....</i>	<i>1—45</i>
1.2.9	<i>Análise das características dos sistemas de microfluidos.....</i>	<i>1—46</i>
1.2.10	<i>Misturadores .....</i>	<i>1—46</i>
1.2.11	<i>Caracterização do Fluxo.....</i>	<i>1—47</i>
1.2.12	<i>Difusão .....</i>	<i>1—47</i>
1.2.13	<i>Modelização .....</i>	<i>1—48</i>
1.2.14	<i>Cinética química .....</i>	<i>1—50</i>
2	FOTODETECÇÃO.....	2—51
2.1	DETECTORES TÉRMICOS E DETECTORES QUÂNTICOS.....	2—51
2.1.1	<i>Detetores Térmicos.....</i>	<i>2—52</i>
2.1.2	<i>Detetores Quânticos .....</i>	<i>2—52</i>
3	ANÁLISE ESPECTRAL DA LUZ VISÍVEL.....	3—55
3.1	SELEÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDAS.....	3—57
3.2	TIPOS GENÉRICOS DE ESPECTROFOTÔMETROS	3—58
3.2.1	<i>Espectrofotômetros miniaturizados.....</i>	<i>3—58</i>
3.2.2	<i>Deposição de Filmes Finos .....</i>	<i>3—60</i>
3.3	O SISTEMA ESPECTROFOTOMÉTRICO PROPOSTO	3—62
4	TEORIA ÓPTICA DAS PELÍCULAS.....	4—63
4.1	EQUAÇÃO DE ONDA.....	4—63
4.2	DISPERSÃO E MÉTODO DE MATRIZ DE TRANSFERÊNCIA	4—65
4.3	MULTICAMADAS PERIÓDICAS.....	4—69
4.4	MULTICAMADAS PERIÓDICAS COM DEFEITOS	4—72
4.5	PROPRIEDADES ÓPTICAS DOS FILMES FINOS.....	4—73
4.6	PROPRIEDADES ÓPTICAS DE PILHAS MULTICAMADAS	4—77
4.6.1	<i>Espessura óptica: quarto de onda e meia onda .....</i>	<i>4—78</i>
4.6.2	<i>Fronteiras não ideais .....</i>	<i>4—79</i>
5	RESSONADOR DE FABRY-PEROT.....	5—81
5.1.1	<i>Modos Ressonador .....</i>	<i>5—82</i>
5.2	RESSONADOR FABRY-PEROT PLANAR NÃO IDEAL	5—85
5.2.1	<i>Resposta Espectral.....</i>	<i>5—85</i>
5.2.2	<i>Perdas associadas ao espelho e ao meio ressonador.....</i>	<i>5—89</i>

5.2.3	<i>Uso de metais na faixa visível do espectro.....</i>	<i>5—91</i>
5.2.4	<i>Ângulo de incidência e não paralelismo. ....</i>	<i>5—91</i>
5.2.5	<i>Camada dielétrica sucessivas. ....</i>	<i>5—92</i>
5.2.6	<i>Espectrofotômetros de Fabry-Perot.....</i>	<i>5—92</i>
5.2.7	<i>Reconstrução do Espectro.....</i>	<i>5—94</i>
5.2.8	<i>Cavidade ressonante de Fabry-Perot ajustável .....</i>	<i>5—96</i>
6	DESENVOLVIMENTO E PROJETO DO FIV - MATERIAIS E MÉTODOS.....	6—98
6.1	SIMULAÇÕES	6—99
6.2	MODELO DO PROCESSO DE DEPOSIÇÃO.....	6—102
6.3	APLICAÇÕES E COMBINAÇÕES DO FIV	6—118
7	CARACTERIZAÇÕES E RESULTADOS DO FIV.....	7—119
8	INTRODUÇÃO A TEORIA ESPECTROFOTOMÉTRICA.....	8—127
8.1	FUNDAMENTOS TEÓRICOS	8—127
8.1.1	<i>Introdução à espectrofotometria e Lei de Lambert-Beer .....</i>	<i>8—129</i>
8.1.2	<i>Instrumentação.....</i>	<i>8—129</i>
8.1.3	<i>Cobertura espectral.....</i>	<i>8—130</i>
8.1.4	<i>Sensibilidade .....</i>	<i>8—130</i>
8.1.5	<i>Lei de Lambert-Beer.....</i>	<i>8—130</i>
8.1.6	<i>Desvios da Lei de Lambert-Beer: .....</i>	<i>8—133</i>
9	MICROSSISTEMAS PARA ANÁLISE DE FLUIDOS BIOLÓGICOS COM FIV E OS	
RESULTADOS DO ESPECTROLAB		9—134
9.1	O DETECTOR	9—138
9.2	O SENSOR.....	9—140
9.3	MÓDULOS ELETRÔNICOS	9—144
9.4	ENSAIOS PRELIMINARES - PROTÓTIPO	9—145
9.4.1	<i>Procedimento para realização de um ensaio comparativo .....</i>	<i>9—150</i>
9.4.2	<i>Ensaio de concentração de Azul de Metileno.....</i>	<i>9—151</i>
9.4.3	<i>Ensaio da dosagem de Ácido Úrico na urina no EspectroLab.....</i>	<i>9—153</i>
10	CONCLUSÕES.....	10—156
10.1	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	10—157
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	158
	APÊNDICE A – ANÁLISE POR RETROESPALHAMENTO RUTHERFORD (RBS)	167
	APÊNDICE B – ANÁLISE DO ÁCIDO ÚRICO POR REAÇÃO DE PONTO FINAL.	168
	APÊNDICE C – LAUDO DE EXAME CLÍNICO - REFERÊNCIA.	172

Índice de figuras

<i>Figura 1- 1: Esquema de um espectrofotômetro básico.</i>	1—22
<i>Figura 1- 2: Esquema do detector de comprimento de onda proposto.</i>	1—26
<i>Figura 1.2.3- 1: Fita Reagente Comercial.</i>	1—32
<i>Figura 1.2.5- 1: Chip descartável da Nanogen [29].</i>	1—35
<i>Figura 1.2.5- 2: Protein LabChip - Agilent Technologies [37].</i>	1—37
<i>Figura 1.2.5- 3: Chip para imunoenaios [38].</i>	1—38
<i>Figura 1.2.5- 4: (a) Diagrama esquemático do protótipo do microsistema no qual os sensores ISFET estão incluídos; (b) fotografia do microsistema fabricado - http://tmecl.nectec.or.th/public/uploaded/products/isfet/ISFET-2/TMEC%20ISFET%20Datasheet-2.pdf</i>	1—39
<i>Figura 1.2.7- 1: Esquema pictórico da estrutura básica do sistema para espectrofotometria.</i>	1—43
<i>Figura 1.2.7- 2: Sistemas de microcanais realizados: a) em vidro e b) em PDMS.</i>	1—43
<i>Figura 1.2.7- 3: Fotografia de uma opção de montagem do EspectroLab: incorporação de um PDA OEM.</i>	1—45
<i>Figura 3- 1: Esquema do espectro eletromagnético.</i>	3—56
<i>Figura 3.3- 1: Esquema de um dispositivo espectrofotométrico chip-sized – (a) Dual In-Line Package (DIP) (b) Transistor Outline Package (TO-99)</i>	3—62
<i>Figura 4.2- 1: Representação de uma estrutura multicamadas in-homogênea (isto é, um meio estratificado) em porções constantes onde ϵ, a permissividade, e μ, a permeabilidade, são z-dependentes. A estrutura é invariante ao longo dos sentidos x e y, e θ, para incidência oblíqua, é o ângulo de incidência.</i>	4—66
<i>Figura 4.3- 1: Uma estrutura multicamadas binária periódica em lâminas constantes, periódica com z-dependência na permissividade ϵ e na permeabilidade μ e invariante ao longo das direções x e y. A espessura das camadas A e B são a e b, respectivamente. A espessura da célula unitária Λ_z representa o período da estrutura.</i>	4—70
<i>Figura 4.5- 1: Esquema da propagação de ondas eletromagnéticas através de filmes finos depositados sobre um substrato. Cada amplitude é definida pelos coeficientes de Fresnel e pelo retardamento de fase.</i>	4—73
<i>Figura 4.6- 1: Esquema da estrutura de pilha representada por uma montagem de camadas.</i>	4—77
<i>Figura 4.6.2- 1: Caso ideal, componentes transmitido e refletido são ou especular ou perfeitamente difusa: a) efeitos macroscópicos, b) efeitos microscópicos [82].</i>	4—80
<i>Figura 5- 1: Ressonador de Fabry-Perot com espelhos planos.</i>	5—81

Figura 5.2.1- 1: Transmissão de onda plana através de um espelho planar Fabry-Perot.	5—86
Figura 5.2.1.3- 1: Picos de transmissão são igualmente espaçados como função da frequência.....	5—89
Figura 5.2.2- 1: Refletância da prata, ouro e alumínio em função do comprimento de onda da radiação [86].	5—90
Figura 5.2.6- 1: Espectrofotômetro tipo varredura	5—93
Figura 5.2.6- 2: Espectrofotômetro tipo matriz com etalons Fary-Perot, cada um com um fotodetector.	5—94
Figura 5.2.7- 1: a) Espectro real de uma fonte de luz monocromática, registro de um espectrofotômetro “ideal”, b) Registro do espectro com um instrumento real.....	5—94
Figura 6.1- 1: Esquema do filtro de cavidade homogênea de banda estreita.....	6—100
Figura 6.1- 2: Resposta espectral simulada do filtro homogêneo $\lambda_0 = 671\text{ nm}$ com, gap de 229,79 nm.....	6—100
Figura 6.1- 3: Esquema pictórico do filtro dielétrico de interferência variável (FIV) de três fases de deposição.	6—101
Figura 6.1- 4: Resposta espectral simulada para uma variação na espessura da cavidade não homogênea de 183,85 nm a 344,69 nm em passos de 1 QWOT=0.25 (diferença na espessura da cavidade de 160 nm indicada pela cunha no desenho).....	6—102
Figura 6.2- 1: Representação da geometria do processo de deposição. Reproduzido de [92] e de [94].	6—103
Figura 6.2- 2: Representação pictórica do equipamento PLS-500 adaptado.....	6—104
Figura 6.2- 3: Ilustração da máscara estática proposta e da rotação das amostras.....	6—105
Figura 6.2- 4: Foto do porta amostras da câmara de deposição, sem a máscara.....	6—106
Figura 6.2- 5: Foto da câmara de depósito sem o mecanismo de máscara.....	6—106
Figura 6.2- 6: Alguns Filtros produzidos com cavidade homogêneas.....	6—107
Figura 6.2- 7: Espectro da amostra na posição n.1 ($\lambda_0 = 655\text{ nm}$).....	6—108
Figura 6.2- 8: Espectro da amostra na posição central n.2 ($\lambda_0 = 655\text{ nm}$).....	6—108
Figura 6.2- 9: Espectro da amostra na posição n.3 ($\lambda_0 = 655\text{ nm}$).....	6—109
Figura 6.2- 10: Alocação do espaço horizontal entre o alvo a o porta amostra para acomodar a máscara.....	6—109
Figura 6.2- 11: Figuras a, b, e c formas poligonais; d) forma espiral euclidiana ou logarítmica.....	6—111
Figura 6.2- 12: a) Perfil simulado: ramo da espiral logarítmica. Em verde é mostrado o raio mínimo na amostra, em vermelho o raio máximo e em azul o perfil da máscara, b) Resultado do perfil da espessura da deposição simulada.....	6—112
Figura 6.2- 13: (a) Perfil simulado: ramo da espiral arquimediana. Em verde é mostrado o raio mínimo na amostra, em vermelho o raio máximo e em azul o perfil da máscara, (b) Resultado do perfil da espessura da deposição simulada.....	6—112
Figura 6.2- 14: a) Desenho do perfil simulado da mascara; b) Desenho mecânico; c) Peça executada em chapa de alumínio; e d) Mascara oblituradora com adição de dispositivo anti-sobreamento	6—113

Figura 6.2- 15: Suporte para 63 amostras.....	6—114
Figura 6.2- 16: Foto do filme de TiO_2 sobre vidro.	6—114
Figura 6.2- 17: Foto do filme de Al sobre vidro.	6—114
Figura 6.2- 18: Amostra do filtro depositado com cavidade inclinada, realizada em três fases.	6—115
Figura 6.2- 19: Esquema pictórico do filtro dielétrico de interferência variável (FIV) de fase única de deposição.....	6—116
Figura 6.2- 20: Amostra do filtro depositado com a máscara em uma única fase; Ref. LF3 $\lambda_0 = 541 \text{ nm}$ $[(HL)^2(H)(L)(L)(H)(LH)^2]$	6—116
Figura 6.2- 21: Amostra do filtro depositado com a máscara em uma única fase; Ref. LF4 $\lambda_0 = 671 \text{ nm}$ $[(HL)^4(H)(L)(L)(H)(LH)^4]$	6—116
Figura 6.2- 22: Esquema geral do princípio de funcionamento do FIV [1].	6—117
Figura 6.3- 1: Combinação de um FIV com um espectrofotômetro convencional.....	6—118
Figura 6.3- 2: Montagens com dois FIVs.....	6—118
Figura 7- 1: a) Foto do EDX-720 – Energy Dispersive X-Ray Spetrometer, b) amostra acomodada na câmara de vácuo do equipamento.	7—119
Figura 7- 2: Ajuste de reta pelo método dos mínimos quadrados.....	7—119
Figura 7- 3: Resíduos Absolutos resultantes do ajuste	7—120
Figura 7- 4: Perfil de espessura da estrutura de multicamadas avaliadas por RBS.	7—121
Figura 7- 5: Amostras do FIV obtidas pelo processo descrito.....	7—122
Figura 7- 6: Dispositivo de varredura espacial.	7—123
Figura 7- 7: Resultado da caracterização da amostra FIV1670_1.	7—123
Figura 7- 8: Resultado da caracterização da amostra FIV2670_1.	7—124
Figura 7- 9: Ampliação da escala do espectro da amostra FIV2670_1.	7—124
Figura 7- 10: Deslocamento da transmitância espectral máxima pelo deslocamento espacial - Ajuste de reta pelo método dos mínimos quadrados.	7—125
Figura 7- 11: Resíduos Absolutos resultantes do ajuste.	7—125
Figura 7- 12: Espectro do Laser HeNe-632,8 nm analisado pelo detector do EspectroLab.	7—126
Figura 8.1.5- 1: Esquema de uma cubeta que contém uma amostra líquida (ϵ, l, c), http://wikiciencias.casadasciencias.org/wiki/images/7/7a/Beer_lambert.jpg-15SET15_16:55hs	8—131
Figura 9- 1: Esquema de calibração do sistema FIV hiperespectral.....	9—134
Figura 9- 2: Representação pictórica de imagens colorizadas hiperespectrais de fluorescência. a) Campo claro de fluorescência em 510 e 560 nm de três células HL60. As cores são artefatos ajustados conforme os comprimentos de ondas corresponde e seus respectivos espectros de emissão para as três células e b) Representação da imagem e espectros em relação às duas regiões indicadas.	9—135
Figura 9- 3: Diagrama esquemático de um dispositivo Plasmônico baseado em FIV sobre película nanoestruturada em Au.	9—136
Figura 9- 4: Diagrama esquemático do funcionamento de um dispositivo de análise em fluxo.	9—136

<i>Figura 9- 5: Diagrama esquemático básico do dispositivo EspectroLab baseado no FIV.....</i>	<i>9—137</i>
<i>Figura 9- 6: Diagrama Funcional de funcionamento do Dispositivo EspectroLab.....</i>	<i>9—138</i>
<i>Figura 9- 7: Esquema do detector chip-sized.....</i>	<i>9—138</i>
<i>Figura 9- 8: Esquema do Conjunto Detector.....</i>	<i>9—138</i>
<i>Figura 9- 9: Deslocamento devido a iluminação não homogênea de incidência oblíqua. ....</i>	<i>9—139</i>
<i>Figura 9.2- 1: Fotografia do dispositivo TSL1410R (1280x1 pixels).....</i>	<i>9—140</i>
<i>Figura 9.2- 2: Fotografia dos dispositivos: TSL1401R (128x1 pixels) da esquerda e LFL1402(256x1 pixels) da direita. ....</i>	<i>9—141</i>
<i>Figura 9.2- 3: Diagrama funcional reproduzido do respectivo datasheet (Texas Advanced Optoelectronic Solutions Inc-TAOSinc)[99].....</i>	<i>9—141</i>
<i>Figura 9.2- 4 - Foto do monitoramento do sinal SI e Clock da implementação .....</i>	<i>9—142</i>
<i>Figura 9.2- 5 - Foto do monitoramento do sinal do 129°, do 257° ou do 1281° impulso.....</i>	<i>9—142</i>
<i>Figura 9.2- 6: Responsividade espectral dos fotodiodos - reproduzido do datasheet (Texas Advanced Optoelectronic Solutions Inc.). Reproduzido de [99].....</i>	<i>9—143</i>
<i>Figura 9.3- 1: Diagrama de blocos do funcionamento dos módulos eletrônicos de avaliação e performático...9—</i>	<i>144</i>
<i>Figura 9.3- 2: Modulo eletrônico principal com o MSC1211, a esquerda, e Arduino UNO, a direita.....</i>	<i>9—145</i>
<i>Figura 9.4- 1: a) Detector formado pelo filtro FIV montado sobre um PDA; b, c) Aspectos de Dispositivo Spectrolab; d e e) Setup do Spectrolab. ....</i>	<i>9—146</i>
<i>Figura 9.4- 2: Canais de microfluídica utilizados: a) Em vidro, 1mm; b) PDMS, 75um e 200 um.....</i>	<i>9—146</i>
<i>Figura 9.4- 3: Esquema do EspectroLab. ....</i>	<i>9—147</i>
<i>Figura 9.4- 4: a) Uma varredura do PDA correspondente a uma avaliação do espectro de um fotodiodo laser, b) Detalhe da definição de um Pixel.....</i>	<i>9—147</i>
<i>Figura 9.4- 5: Espectro do diodo laser obtido com o protótipo EspectroLab. ....</i>	<i>9—148</i>
<i>Figura 9.4- 6: Espectro de um diodo laser realizada com espectrofotômetro modelo USB4000 da OceanOptics, pico do comprimento de onda 655,57 nm e largura a meia altura de 2.0 nm.....</i>	<i>9—148</i>
<i>Figura 9.4- 7: a) Foto montagem do detector EspectroLab, versão de três áreas de detecção sem o FIV; b) Foto montagem do detector EspectroLab, versão com área de detecção única (TSL1401-OEM) sem o FIV; c) Foto montagem do detector EspectroLab, versão de três áreas de detecção com o FIV; d) Foto montagem do detector EspectroLab, versão de uma área de detecção única (TSL1401-DIP8) com FIV.....</i>	<i>9—149</i>
<i>Figura 9.4.2- 1: Curva analítica para amostras do azul de metileno. ....</i>	<i>9—152</i>
<i>Figura 9.4.3- 1: Dados graficados adquiridos no EspectroLab para teste de exame ácido úrico na urina. .9—</i>	<i>155</i>
<i>Figura 10- 1: Câmera Geoespectral. ....</i>	<i>10—156</i>

Índice de tabelas

<i>Tabela 1.2.4- 1: Frequência de amostragem típica de vários parâmetros clínicos [24].</i>	<i>1—33</i>
<i>Tabela 2.1.2- 1: Energia de banda e comprimento de onda para alguns materiais semicondutores.</i>	<i>2—53</i>
<i>Tabela 6.2- 1: Projeto do filtro homogêneo de banda estreita $\lambda_0=67$ nm.</i>	<i>6—99</i>
<i>Tabela 6.2- 2: Projeto do filtro FIV 671 nm.</i>	<i>6—101</i>
<i>Tabela 6.3- 1: Definição dos Símbolos</i>	<i>6—103</i>
<i>Tabela 6.3- 2: Projeto do filtro homogêneo de banda estreita 655 nm.</i>	<i>6—107</i>
<i>Tabela 7- 1: Espessura avaliada por RBS.</i>	<i>7—121</i>
<i>Tabela 9.4.2- 1: Absorbância correspondente a concentração da amostra.</i>	<i>9—152</i>
<i>Tabela 9.4.2- 2: Dados brutos de Absorbância das amostras padrão e do teste de ácido úrico.</i>	<i>9—154</i>
<i>Tabela A. 1: Sumário das medidas de RBS.</i>	<i>167</i>

1 Introdução

Este trabalho, baseado na obtenção dos filtros de interferência variável [1], pretende contribuir para a área de projetos de sensores de fluidos biológicos e químicos com uma nova abordagem na concepção da detecção do comprimento de onda da radiação luminosa. O FIV, basicamente foi projetado como um sistema de imagem linear, usado para compor um detector espectral ou um microespectrofotômetro de alta resolução que, a propósito, doravante serão tratados aqui indistintamente. O FIV em conjunto com um dispositivo de elementos fotossensíveis arranjados sob um dispositivo de microfluídica deve formar um sistema de medida e leitura de parâmetros espectrofotométricos que pode finalmente ser integrado em um sistema on-chip.

Antes de ir para os detalhes elétricos e ópticos, este presente capítulo oferece uma introdução aos microespectrofotômetros e seu conteúdo inclui algumas aplicações e ressalta a compatibilidade com as técnicas de microfabricação e implementações de pós-processamento.

Espectrofotômetros são sistemas que separam a luz em seus espectros de frequências constituintes e, desse modo, mede as propriedades desta luz em relação aos comprimentos de onda eletromagnética analisada.

A análise do espectro óptico (detecção óptica do comprimento de onda e a sua monitoração) é fundamental em muitas áreas científicas, campos de pesquisa, aplicações técnicas e industriais e bastante relevante em muitas outras. A espectroscopia, a espectrofotometria, a colorimetria, a demultiplexação do comprimento de onda nas telecomunicações, são algumas das mais conhecidas. Assim, os detectores espectrais e os espectrofotômetros encontram aplicações em campos abundantes, incluindo a análise de drogas, de alimentos, de cosméticos, na agricultura, etc. Estes dispositivos quando atendem a faixa do infravermelho médio são utilizados na medição de gases durante alguns processos químicos ou biológicos. À medida que o aquecimento global torna-se cada vez mais um grave problema, também eles desempenham um papel ativo no acompanhamento das emissões de gases do efeito estufa ou dos processos de combustão [1], não só na vida diária, mas também nas atividades industriais. Ainda, nesta faixa do infravermelho médio, estão ajudando a melhorar a qualidade de vida através da simplificação da inspeção de alimentos, conservando ou melhorando a confiabilidade dos testes. Por exemplo, são utilizados para a detecção de óleo e gordura. Os detectores espectrais e espectrofotômetros na faixa do UV-Visível estão

envolvidos com fótons mais energéticos em comparação com aqueles que operam na faixa do infravermelho médio e estes são utilizados em muitas experiências biológicas, para quantificar proteínas ou as concentrações de DNA [2].

De um modo geral, um espectrofotômetro compreende três partes, como é esquematizado na Figura 1- 1, um sistema de iluminação ou fonte de luz, um sistema de dispersão óptica [3] e um sistema de imagiologia ou detecção, sejam: 1) A fonte de luz: uma luz de referência que pode ser gerada no interior do espectrofotômetro ou pode ter origem externa como, lâmpadas, leds ou lasers. A luz de referência é projetada sobre a amostra, onde interações, como a absorção e/ou espalhamento, acontecem entre a radiação e a matéria.

Figura 1- 1: Esquema de um espectrofotômetro básico.

Estas interações resultam num novo feixe de luz com diferentes propriedades, tais como, diferentes intensidades de luz, diferentes polarizações ou uma nova direção do feixe de luz. Então uma comparação entre o feixe original e o novo feixe revela informações sobre a estrutura química da amostra iluminada; 2) O sistema de dispersão óptica: o feixe de luz pode ser disperso com base em vários princípios diferentes, como refração, difração e interferência. O desempenho da dispersão varia muito entre estes princípios ópticos. Alguns elementos de colimação podem ser também integrados para focar a luz quando desejável; 3) O sistema detector ou de imagem: iluminada pela luz dispersa, é a parte do sistema que transforma a energia da radiação em sinais elétricos processáveis. O sistema de imagiologia é composto por dois sub-módulos básicos: a) um detector que pode ter a forma de uma matriz de múltiplos detectores ou detectores isolados; b) circuitos de entrada e saída que geralmente integram um amplificador, um conversor A/D e outros circuitos de processamento de sinal e controle.

As especificações típicas que envolvem os espectrofotômetros são o poder de resolução (R) e o *full width at half maximum* ($FWHM$) ou largura total a meia altura devida ao

sistema de dispersão. O sistema de imagem deve ser concebido para se obter os melhores resultados de resolução para os espectrofotômetros pretendidos, isto é, maior densidade de pixels. As mais importantes especificações do sistema de imagem são a resolução espacial, a sensibilidade, o SNR (Signal-to-noise ratio - razão sinal-ruído) , a responsividade espectral, bem como a velocidade de leitura.

Para se alcançar um espectrofotômetro de alto desempenho, componentes ópticos e caminhos ópticos longos são necessários, devido a isso, a maioria dos espectrômetros são volumosos, pesados, caros e de operação não muito amigável.

Atualmente apresentam-se uma grande variedades de espectrofotômetros que atendem uma vasta gama de requisitos, inclusive de miniaturização, e os chamados microespectrofotômetros apresentam muitos benefícios: são portáteis devido ao tamanho e peso reduzidos; o volume das amostras para análise pode diminuir à medida que os espectrômetros são reduzidos em tamanho; a integração das funções sistemáticas se torna possível, já que um microespectrofotômetro compacto pode agregar todo o controle e todo o processamento de sinais necessários; e ainda, outras funções adicionais para aplicações específicas em um mesmo encapsulamento de um único chip pode ser alcançado. Assim, o microespectrofotômetro aqui proposto apresenta grande flexibilidade e pode ser adequado, ou para, produção em lotes, produção em alta escala de circuitos integrados dedicados, escala moderada em processos de pós-processamento de dispositivos CMOS (*Complementary metal oxide semiconductor*), escala limitada e reduzida em processos de microeletrônica de projetos de circuitos híbridos e módulos eletrônicos de subsistemas integrados com utilização da tecnologia de montagem em superfície (**SMT** - *Surface Mount Technology*), ou ainda em volume irrisório, artesanal e de integração moderada com componentes eletrônicos convencionais. A miniaturização dos espectrômetros envolvem redução das dimensões dos sistemas ópticos e dos sistemas de imagem. Graças ao desenvolvimento da microeletrônica, os sistemas de imagem já estão prontos e na escala apropriada e adequada para esta integração e apresentam muito alta performance. Atualmente, a miniaturização de sistema óptico também vem sendo atingido devido ao desenvolvimento da tecnologia dos MicroSistemas-Ópticos-Eleto-Mecânicos (MOMEMS). Os microespectrofotômetros hoje obtidos podem ser utilizados principalmente na detecção de pequenas amostras. Alguns exemplos dessas aplicações são: a análise forense, tal como, a análise de pequenas amostras de fibras têxteis, cabelo, medicamentos, materiais tóxicos, explosivos, tintas, toners, etc; a análise de produtos farmacêuticos e materiais biomédicos, tal como, detecção de tumor em amostras de tecido ou de fluídos biológicos ou detecção por análise da respiração. Em relação as diferenças das

implementações de macro e micro espectrofotômetros, quanto aos sistemas ópticos, os macro espectrofotômetros costumam usar dispositivos óptico como lentes, prismas, espelhos convexos e grades. Já nos microespectrofotômetros as estruturas ópticas são planares para facilitar o fabrico em técnicas de microeletrônica.

Referente aos componentes do sistema de imageamento, as técnicas principais são similares tanto para os macro como para os microespectrofotômetros, porém estes últimos têm maiores exigências na sua resolução espacial e na IC-compatibilidade. Sensores CCD com técnicas de arrefecimento geralmente são usados nos macroespectrofotômetros para reduzir o ruído em baixas correntes de detecção. No projeto de microespectrofotômetros, os sensores de imagem CMOS são sempre os preferidos para a integração on-chip com objetivo de se atingir um baixo consumo de energia.

Considerações acerca da classificação dos microespectrofotômetro baseadas no sistema de dispersão e no sistema de detecção para identificar qual tipo de estrutura é mais adequada para implementações IC-compatíveis pode ser encontrada em Chi, Liu (A Double-mode Linear Imaging System for IC-compatible Microspectrometers in Visible Light -2010).

Os microespectrofotômetros ópticos Single-chip e os microssistemas de fluidos biológicos têm um enorme potencial devido as suas propriedades de baixo custo e da potencial manipulação de amostras em baixo volume. Estimulado pelas demandas urgentes das áreas técnicas e científicas tais como, análise ambiental, identificação de biomoléculas, análise química, entre outras, o presente trabalho pretende contribuir, viabilizar e estimular alguns projetos de microespectrofotômetros, detectores espectrais de alta resolução e biossensores dedicados, através do desenvolvimento do FIV.

Em particular, o interesse envolvendo a detecção óptica e o monitoramento da distribuição espectral de uma fonte de luz é central neste trabalho. Em comparação com as alternativas eletrônicas de medição da distribuição espectral ou a avaliação de um espectro monocromático, os sensores ópticos oferecem muitas vantagens, como por exemplo: são muito sensíveis, mais robustos e imunes a interferências eletromagnéticas. Inúmeros sensores têm surgido para atender a demanda de aplicações exigentes, como os que se baseiam na variação das propriedades ópticas (como reflexão e transmissão) de certos materiais.

Sensores espectrais e monocromáticos especiais que monitoram uma superfície ou objeto, os *Surface Plasmon Resonance* (SPR), são amplamente utilizados para o rastreamento de interações bioquímicas [4]. Outros grupos de pesquisa desenvolvem biossensores ópticos baseados em cavidades de Fabry-Perot [5] ou filtros de cavidades ressonantes [6] [7].

Também existem aplicações que utilizam a mudança da ressonância óptica para, por exemplo, quantificar o ácido desoxirribonucleico (ADN) [7].

Outro exemplo de um sensor óptico de destaque é o sensor de fibra óptica de grade de Bragg (*Fiber Bragg Grating* - FBG) [9] e [10]. Um FBG é constituído por uma modulação periódica do índice de refração ao longo do comprimento de uma fibra óptica. Um dispositivo como este reflete um determinado espectro estreito de comprimento de onda, determinado pelo período do perfil de índice de refração. Um estímulo externo (por exemplo, temperatura, tensão mecânica, stress, revestimento biológico, ambiente químico, etc.) que mude a periodicidade da grade, desloca consequentemente o espectro refletido. Assim, este deslocamento do comprimento de onda é uma medida direta do estímulo externo, contudo o deslocamento do comprimento de onda tem que ser medido com resolução de detecção muito alta, de forma a permitir a quantificação do estímulo. Os Sensores bidimensionais e tridimensionais de cristais fotônicos (*Photonic Crystal* – PC) são análogos aos FBG [10]. Nos PCs a modulação periódica do índice de refração é realizada em mais de um sentido. Os cristais fotônicos podem ser preenchidos ou unidos com uma espécie sob teste e as alterações nestas espécies podem ser detectadas monitorando-se as propriedades ópticas de reflexão e de transmissão.

Diversos métodos podem ser usados para detectar pequenas mudanças espectrais. Um instrumento para essa finalidade seria um espectrofotômetro, que pode ser baseado em uma grade de difração ou em uma configuração interferométrica. Espectrofotômetros baseados em prismas e grades de difração ou interferométricos como de “mach-Zehnder” ou de “Fizeau” [11] geralmente fornecem informações excepcionalmente boas do comprimento de onda, mas são volumosos, caros e sensíveis à vibração. Os interferômetros à base de fibra óptica não sofrem estas limitações, mas cobrem somente uma faixa espectral limitada. Assim, um detector compacto capaz de oferecer boa resolução na detecção de variações do comprimento de ondas muito pequenas é altamente desejável. Uma abordagem simples usa vários fotodiodos (*photodiode*-PD) revestidos com diferentes filtros passa-banda para permitir que apenas uma pequena faixa espectral seja transmitida ao PD. A banda de transmissão de cada filtro é peculiar de modo que cada PD registra uma diferente banda espectral.

A abordagem proposta neste trabalho, combina as propriedades de reflexão e de transmissão de cristais fotônicos bidimensionais com um filtro banda-passante em forma de cunha para obtenção de detectores de comprimentos de onda muito compactos e rígidos.

Assim, neste trabalho, é proposta a combinação de um filtro de interferência de banda-passante variável (filtro de interferência variável-FIV ou *variable interference filter*-VIF, ou

linear filter interference variable-LFIV ou ainda *linear variable filter*-LVF), que se apresentam nas modalidades circular ou linear (CFIV, LFIV) [12] e [13], com um dispositivo formado de elementos fotossensíveis distribuídos, que podem ser usados para realizar um detector de comprimentos de onda que seja capaz de resolver um deslocamento de comprimento de uma radiação monocromática na ordem de pm [14]. Por outro lado, esta mesma configuração pode ser usada para resolver os componentes espectrais de uma fonte de luz policromática [15] com expectativa de se obter resoluções mais modestas. O filtro converte a informação do comprimento de onda da luz incidente em uma distribuição espacial da intensidade que pode ser detectada com precisão elevada pela matriz de elementos eletrônicos fotossensíveis, por exemplo, fotodiodos PDA (*Phodiode Array*), constituindo um dispositivo multiespectral, hiperespectral ou ultraespectral, dependendo da densidade de elementos fotossensíveis representativos da radiação incidente, muito robusto e compacto. A Figura 1- 2 apresenta esquematicamente a configuração do detector de comprimento de onda proposto. A funcionalidade desta combinação será investigada e avaliada no que diz respeito às propriedades ópticas do filtro, notadamente a sua resposta espectral. Isto inclui o gradiente dos deslocamentos dos picos de transmissão através da superfície do filtro e a largura espectral da função de transmissão. Também, será analisada a influência da forma de iluminação do dispositivo.

Figura 1- 2: Esquema do detector de comprimento de onda proposto.

Este capítulo de introdução prossegue realizando uma breve descrição sobre as análises dos fluidos biológicos e as vantagens de se efetuar estas análises num tipo de micro-sistema como o tipo aqui proposto. Apresenta-se também uma breve revisão de microssistemas já implementados e descritos na literatura, alguns deles disponíveis no mercado, estabelecendo-se uma noção da motivação e dos objetivos deste projeto.

1.1 Motivação e objetivos

O objetivo desta tese é sistematizar e estruturar o estudo da técnica de obtenção do FIV (Filtro de Interferência Variável), possibilitar a detecção multiespectral, hiperespectral e ultraespectral monolítica, estática e integrável que favoreça o desenvolvimento de dispositivos e microssistemas dedicados a diagnósticos clínicos e a identificação de espécies bioquímicas, bem como prospectar novas concepções de uso e novas aplicações. Pretende-se também, no escopo deste trabalho, propor uma arquitetura básica de microssistemas para quantificar biomoléculas dos fluidos biológicos que, funcione de forma análoga aos aparelhos utilizados nos laboratórios de análises clínicas (por espectrofotometria) e tenha desempenho comparável a estes, inclua um sistema de leitura e apresentação dos resultados e apresente custos de fabricação, em pequena, média e alta escala, viáveis e bastante atraentes.

1.1.1 Tópicos abordados e desenvolvidos neste trabalho

Neste trabalho, este capítulo de introdução inclui noções e aborda conceitos de análise de fluidos biológicos, biomoléculas, microssistemas e introduz a apresentação da proposta do EspectroLab; no capítulo 2, são apresentadas as noções básicas da fotodetecção; no capítulo 3, são apresentados e considerados os conceitos de análise espectral da luz visível, seleção do comprimento de onda, tipos de espectrofotômetros e deposição de filmes finos, para preparar a fundamentação do processo de construção do FIV e, com ele, de um sistema microespectrofotométrico; no capítulo 4, é apresentada a teoria óptica associada às propriedades ópticas dos filmes finos e das pilhas multicamadas; no capítulo 5, são tratados os ressonadores de Fabry-Perot e elaborada a noção de cavidade ajustável; no capítulo 6, é apresentado o desenvolvimento do FIV, algumas aplicações, simulações e modelo do processo de deposição associado; no capítulo 7, são apresentadas as caracterizações e os resultados principais da pesquisa desta tese relacionadas ao FIV; no capítulo 8, são introduzidos os princípios da teoria espectrofotométrica; no capítulo 9, são apresentados os microssistemas para análise de fluidos biológicos baseado no FIV e os ensaios preliminares do protótipo EspectroLab; no capítulo 10, fazem-se as conclusões e as considerações finais.

1.2 Análise de fluidos químicos e biológicos

1.2.1 Conceito de fluido biológico

Fluido biológico é o termo utilizado para definir a componente líquida de organismos vivos de origem humana ou animal. No ser humano os fluidos mais importantes são o sangue (soro e plasma), a urina, o fluido cerebrospinal, o fluido linfático, o fluido intracelular, o fluido lacrimal, a saliva, a bÍlis e o fluido sinovial.

Estes fluidos contêm água, íons orgânicos, aminoácidos, glicídios, lipídeos, peptídeos, proteínas, ácidos nucleicos, etc. Os dois primeiros são compostos simples que se interligam para formar as moléculas biológicas (biomoléculas). O restante são proteínas e ácidos nucleicos, denominados de “macromoléculas”, devido à sua estrutura ser formada pelo encadeamento de um grande número de moléculas de um ou mais tipos, resulta que são maiores que as biomoléculas anteriormente mencionadas [16].

1.2.2 Biomoléculas medidas nos fluidos biológicos

A análise dos fluidos biológicos e das biomoléculas ou compostos neles presentes é muito relevante no diagnóstico de doenças. Características como a cor, a transparência e o volume são exemplos de análises preliminares em fluidos biológicos. O resultado destas características qualitativas podem inicialmente indicar um possível estado de doença de um indivíduo (ex.: infecção urinária pela análise da cor da urina e/ou meningite pela análise da claridade do fluido cerebrospinal).

Contudo, é necessário medir quantitativamente várias biomoléculas ou compostos nos fluidos biológicos para estabelecer um padrão de anormalidades. As biomoléculas ou compostos mais rotineiramente examinados incluem: a albumina, as proteínas totais, a globulina, o ácido úrico, a bilirrubina total, o cálcio, o sódio, o potássio, o cloro, o colesterol, a creatinina, a glicose, o aspártato transaminase (AST) e o fósforo inorgânico. Existem padrões de valores estabelecidos como anormais e, quando obtidos dessas medições, fornecem dados que permitem chegar a um diagnóstico definitivo. As implicações clínicas são inúmeras e podem ser consultadas em [17].

No soro sanguíneo, na urina e no fluido cerebrospinal, a separação de proteínas, processo denominado de “eletroforese de proteínas”, fornece um diagnóstico sobre a

distribuição e concentração dos principais componentes presentes em cada fração de proteína. Este teste pode diagnosticar alguns estados inflamatórios, disfunções imunes e evolução de uma doença e seu tratamento. As proteínas mais solicitadas em exames de rotina são: a albumina, as globulinas (α_1 , α_2 , α_3 , β , γ), as hemoglobinas (S, A1, F) e as lipoproteínas (β , pré- β , α).

A contagem das células presentes num dado fluido biológico fornece informações úteis tanto para o diagnóstico como para o prognóstico. Em exames de rotina, o sangue e a urina são os fluidos mais solicitados para este procedimento laboratorial. No sangue são normalmente contadas as células brancas (leucócitos), as células vermelhas (hemácias) e as plaquetas (trombócitos). Na urina, além da contagem de células, também tem interesse identificar e contar bactérias, cristais e cilindros, pelo que é frequentemente utilizada a denominação de “exame aos sedimentos urinários”.

Detectar a presença de anticorpos em fluidos biológicos é a medida utilizada no diagnóstico de doenças infecciosas, distúrbios autoimunes, alergias imunes e doenças neoplásicas. Este tipo de exames apenas é solicitado quando há suspeita de alguma das doenças mencionadas. A resposta antígeno-anticorpo é a defesa natural do organismo contra agentes invasores como bactérias, vírus, parasitas e fungos. Os antígenos são biomoléculas que estimulam e subsequentemente reagem com os produtos da resposta imune. Os anticorpos são proteínas produzidas pelo sistema imune do organismo em resposta a um antígeno, de forma a retirar as possibilidades de sobrevivência do antígeno criado pelos agentes invasores [17].

Separar, sequenciar, amplificar e determinar a estrutura do DNA (ácido desoxirribonucleico) e do RNA (ácido ribonucleico) são exames solicitados não só no caso de suspeita de doenças, mas também na investigação criminal, por exemplo. O DNA e RNA são macromoléculas que determinam a formação e o desenvolvimento de todas as formas de vida. A sua estrutura contém a informação necessária para a síntese dos milhares de proteínas que regulam todas as funções vitais. O seu estudo permite produzir biomoléculas para combater as doenças (ex.: vacinas e anticorpos).

1.2.3 Laboratórios de análises clínicas

Os exames de fluidos biológicos disponíveis nos laboratórios de análises clínicas podem ser divididos, de um modo geral, em exames físicos, químicos e microscópicos. Os

exames físicos, são os que examinam as características físicas do fluido, provendo uma medida qualitativa da amostra em análise, como a cor, a claridade e o volume, por exemplo. Apesar de simples, a informação básica resultante de um exame físico, contém dados preliminares relativamente à presença de algumas doenças. Mais ainda, essas informações podem ser necessárias para explicar descobertas obtidas nos exames químicos e microscópicos. Os exames químicos analisam as características químicas dos fluidos, provendo uma medida quantitativa da biomolécula ou composto em análise. A maior parte destes exames são realizados por espectrofotometria. Espectrofotometria é o estudo da interação da radiação eletromagnética com as biomoléculas. A espectrofotometria por absorção óptica é frequentemente utilizada para determinar a concentração e/ou quantidade de uma determinada biomolécula numa amostra (por exemplo, proteínas ou glicose). O seu princípio é baseado na absorção óptica da luz pelas biomoléculas presentes na amostra. Essas biomoléculas têm um máximo de absorção para um determinado comprimento de onda do espectro eletromagnético. O valor da absorção nesse comprimento de onda está diretamente relacionado com a concentração dessas biomoléculas na amostra. A espectrofotometria com detecção por fluorescência, tem a vantagem de ser muito sensível e seletiva, o que a torna a técnica a ser utilizada para determinar muito baixas concentrações de uma determinada biomolécula numa amostra (ex.: albumina na urina). Embora com menos frequência que a detecção por absorção óptica, também ela é usada em laboratórios clínicos e é aplicada a biomoléculas que emitem uma luz fluorescente quando excitadas por uma fonte de luz com um comprimento de onda específico. A desvantagem da detecção por fluorescência reside no tempo extremamente curto da luz fluorescente emitida pelas biomoléculas (< 500 ns) e pelo fato de ser necessário encontrar reagentes que contenham compostos fluorescentes, quando as biomoléculas a analisar não os tiverem. A cromatografia e a eletroforese são os métodos realizados em laboratórios clínicos para separar as proteínas existentes numa amostra de um fluido biológico. A cromatografia executa a separação de acordo com o tamanho, carga e afinidade de ligação das biomoléculas, baseando-se nas diferentes velocidades a que cada um dos componentes é arrastado por um determinado solvente, num meio poroso apropriado [18]. Na eletroforese a separação é baseada na mobilidade eletrocinética das biomoléculas numa solução sob influência de um campo elétrico [19]. Enquanto que os exames microscópicos detectam, identificam e quantificam os componentes insolúveis presentes na amostra do fluido biológico. A contagem e exame de células, de bactérias ou de cristais, são exemplos deste tipo de exames. As técnicas de microscopia utilizadas nos laboratórios clínicos são: microscopia de campo brilhante, microscopia de contraste de fase, microscopia de polarização

e microscopia de contraste de interferência. Na primeira técnica, os objetos ampliados aparecem escuros contra um fundo claro sendo a mais frequentemente utilizada, uma vez que é usada nos exames de rotina. A microscopia de contraste de fase converte variações no índice de refração do objeto em análise em variações de intensidade da luz ou contraste, esta é a técnica que permite uma visualização mais detalhada dos componentes translúcidos ou com baixos índices de refração (ex.: cilindros hialinos na urina) e das células vivas. A microscopia de polarização é baseada nos fundamentos de uma luz polarizada sendo esta a técnica utilizada para analisar biomoléculas com a propriedade de refratar a luz em duas direções a 90° (ex.: cristais e lipídios). Por fim, a microscopia de contraste de interferência fornece uma imagem tridimensional com ilustrações de detalhes estruturais muito precisos sendo a técnica mais dispendiosa e muitas vezes não é utilizada em análises de rotina [20].

Vários instrumentos automatizados estão disponíveis atualmente nos laboratórios de análises clínicas para realizar vários testes simultaneamente para um fluido biológico com um volume de líquido da ordem de 1 ml em cada teste, tais equipamentos são bastante sofisticados, precisos e confiáveis. Contudo, os equipamentos normalmente disponíveis nos consultórios médicos ainda não permitem ao próprio médico elaborar um diagnóstico confiável no momento da consulta, mas para isso depende do resultado de exames que são realizados em laboratórios. Além da demora, defeitos de etiquetagem, problemas de conservação, contaminação ou extravios de amostras, são fonte de erros e podem contribuir com atrasos ou falseamento de diagnósticos.

Algumas análises químicas de rotina em urina encontram-se comercialmente disponíveis fora do ambiente laboratorial, as chamadas fitas reagentes, Figura 1.2.3- 1, podem ser usadas e lidas diretamente por pacientes e profissionais de saúde. O seu aspecto é semelhante a uma fita de papel, podendo ser de papel ou de plástico. Estas fitas, quimicamente impregnadas com reagente, permitem uma rápida determinação da concentração de determinadas biomoléculas ou compostos na urina, através de resultados visuais codificados por cores. O pH, a proteína total, a glicose, as cetonas, a bilirrubina (ou hematóidina), o nitrito e a hemoglobina, são alguns exemplos das biomoléculas ou compostos por elas analisados.

A tonalidade das colorações produzidas na fita, resultado das reações dos reagentes impregnados na fita com a amostra, estão relacionadas com a concentração de cada biomolécula analisada na amostra de urina. No kit é fornecido um padrão de transferência de cor e de tempo de reação para cada categoria de biomoléculas, contra os quais deve-se

comparar as cores produzidas, considerando-se os tempos de reação das biomoléculas com a fita.

Estas fitas reagentes funcionam como laboratórios em miniatura, mas a leitura manual da cor, mesmo com controles, não é precisa.

<http://estudentedemedicina.blogspot.com.br/search/label/Analises%20laboratoriais> - acessado em 08/10/2015.

Figura 1.2.3- 1: Fita Reagente Comercial.

1.2.4 Microssistemas de análise de fluidos biológicos

Os esforços científicos atuais dirigem-se numa nova abordagem para atender a necessidade de uma ampla monitorização dos parâmetros de saúde na prevenção de doenças. A necessidade de procedimentos e resultados rápidos realizados à baixas concentrações e utilizando pequenos volumes de amostras (redução de ordem de ml dos equipamentos atuais para de microlitros) levou a que nas últimas décadas surgissem desenvolvimentos na miniaturização de sistemas de análise de fluidos, sistemas de microcanais fluídicos, detectores e eletrônica de leitura, integrados num único dispositivo.

Ao conjunto de vantagens associadas aos microssistemas de análise de fluidos, incluem-se as menores dimensões e a melhor eficiência na aplicação, no tempo de resposta, no custo, no desempenho analítico, na integração, na produtividade, na automação e na segurança [21]. Uma vez que são usadas quantidades na ordem de microlitros, ou mesmo nanolitros de solventes orgânicos, os custos associados com a compra de novos reagentes e com o descarte dos já utilizados é praticamente desprezível. A automação dos procedimentos de preparação de amostras permite que uma pessoa menos especializada possa realizar uma análise com precisão sem que derramamentos e outros acidentes representem problemas

relevantes. Um microsistema de baixo custo quando fabricado em escala compatível com os processos de microeletrônica, pode ser utilizado como um laboratório de análises clínicas portátil, adequado para realizar medições em qualquer local (ponto de cuidado-PC). Adicionalmente, em geral, as etapas das análises feitas em laboratório convencional são mais extensas e numerosas que as realizadas em um microsistema [22].

Contudo, apesar das vantagens, uma avaliação em relação ao grau de miniaturização necessária ou desejada, devido à natureza de alguns sistemas biológicos, é imprescindível. Se o número de moléculas numa amostra com uma concentração relevante para diagnóstico for muito reduzido, pode ser atingido o ponto em que as moléculas em teste não são introduzidas no sistema. Assim, deve ser sempre calculado o volume de líquido mínimo que se pode utilizar numa análise. Como exemplo, para a menor concentração de macromoléculas de albumina na urina, o volume mínimo a ser utilizado é da ordem dos fentolitros ao passo que, no caso do DNA, é da ordem das centenas de microlitros [23].

Um microsistema de análise de fluidos biológicos encontra uma vasta área de aplicações em campos como os diagnósticos clínicos, a análise de drogas, os exames imunológicos, a separação e a análise de proteínas, o doseamento e a transferência de medicamentos, a análise genética (a amplificação e a sequenciamento do DNA), a cultura de células e o equipamento de monitorização e de diagnóstico. Pelo seu baixo custo e portabilidade permite que uma análise e um correto diagnóstico preliminar possa ser realizado em um chamado "ponto de cuidado". Como exemplo, a Tabela 1.2.4- 1 refere alguns exemplos das biomoléculas/compostos mais frequentemente medidos em análises clínicas e o tempo necessário para a sua monitorização.

Tabela 1.2.4- 1: Frequência de amostragem típica de vários parâmetros clínicos [24].

Segundos /Minutos	Horas	Dias
Oxigênio	Creatinina	Ferro
Dióxido de Carbono	Bilirrubina	Albumina
Ion Potássio	Uréia	Globulina
Glicose	Sódio	Colesterol
Lactato	Cloreto	Ácido úrico
Cortisona	Triglicéride	
Neurotransmissores		

1.2.5 Microssistemas de análise de fluidos biológicos: Estado da arte

O surgimento, desenvolvimento e progresso da tecnologia dos microssistemas de análise de fluidos parece obedecer o mesmo paradigma da evolução da integração de circuitos eletrônicos. O desenvolvimento da microeletrônica que ocorreu nas últimas décadas do século XX facilitou a miniaturização da maior parte dos componentes eletrônicos a um nível tal que, atualmente, acima de um bilhão de transistores podem ser concentrados em 133 mm² num *chip* microprocessador *standard*. Esta escala de integração (através da miniaturização) determinou o enorme ganho no desempenho do processador durante os últimos quarenta anos. Os materiais e técnicas de processos de microeletrônica, combinados com as técnicas de micromáquinas (MEMS), incrementaram um enorme desenvolvimento da miniaturização, dos métodos e das técnicas analíticas nas ciências físicas e biológicas [25]. A primeira designação para um microssistema de análise de fluidos (não só biológicos, mas em geral) foi a de “ μ TAS” (*micro total analysis system*), lançado por Manz *et al.* [26], e, quase concomitantemente, o “*lab-on-a-chip*” (*laboratory on a chip*) LOC, termo este largamente utilizado para sistemas de análise de fluidos que desempenhem o tratamento, o transporte, a detecção da amostra e que incorpore a eletrônica de leitura e de controle num único dispositivo.

As vantagens dos microssistemas de análise de fluidos biológicos despertam atualmente crescente interesse e conquistam investimentos das indústrias biomédicas e farmacêuticas que se interessaram em comercializar este tipo de dispositivos. Este interesse tornou a área dos microssistemas de análise de fluidos biológicos num campo de pesquisa e desenvolvimento extremamente fértil que compreende inúmeras aplicações. A descrição de várias aplicações biomédicas nas áreas de cultura e manuseio de células, testes imunológicos, separação de proteínas e análise de DNA, podem ser consultados em [27].

A análise do DNA, amplificação, separação e sequência, é uma importante área para a pesquisa e comercialização dos microssistemas de análise de fluidos biológicos e estes dispositivos têm a sua maior aplicação na investigação genética, na investigação criminal e no desenvolvimento de medicamentos. A separação das moléculas do DNA é normalmente realizada usando a técnica da eletroforese capilar. Esta técnica é extremamente adequada para ser implementada num microssistema, uma vez que a separação é realizada com uma eficiência muito elevada e num tempo inferior a um segundo [28].

A *Nanogen Inc.* apresentou o desenvolvimento de um microsistema para análise e separação do DNA onde a técnica de eletroforese capilar em matriz apresenta os reservatórios das moléculas de DNA em uma estrutura de matriz conforme ilustrado na Figura 1.2.5- 1 e denominado de “*Nanochip electronic microarray*”. Fabricado em silício, contém 100 poços de teste dispostos em matriz e permite determinar as características de uma amostra desconhecida de DNA. Cada poço de teste pode ser controlado eletronicamente através de um computador conectado ao dispositivo. As moléculas do DNA e RNA (que têm cargas naturais positivas e negativas) podem assim ser movidas com grande flexibilidade, velocidade, precisão e eficiência. As especificações técnicas deste dispositivo podem ser consultadas em [29].

A técnica PCR (*Polymerase Chain Reaction*) é muito comum na amplificação do DNA. É um procedimento repetitivo que permite replicar, por ação da enzima DNA-polimerase, em tubo de ensaio e por ação do calor, quantidades significativas de DNA a partir de um determinado segmento de DNA [30].

<http://www.di.unisa.it/~ads/BIOINFORMATICA/SequenziamentoDNA/microfabbricati.htm>, acessado em 08/10/2015.

Figura 1.2.5- 1: Chip descartável da Nanogen [29].

Normalmente a reação PCR é realizada numa câmara que é aquecida e arrefecida em ciclos. Os equipamentos convencionais que realizam a PCR geralmente necessitam de ciclos longos devido às grandes constantes de tempo associadas com o aquecimento e arrefecimento. Contudo, a PCR em microsistemas permite o uso de volumes de amostras muito pequenos (nl ou mesmo pl no caso da estrutura da câmara ser em matriz) e de materiais com condutividades térmicas elevadas como o vidro ou o silício [31]. Estas características permitiram reduzir drasticamente o tempo dos ciclos.

Uma evolução à tradicional reação PCR em câmara é a chamada “PCR de fluxo contínuo”, em [32] é apresentado um esquema conceitual onde a solução para a reação PCR é conduzida dentro de um canal com 3 zonas de temperaturas distintas, fazendo assim o efeito do ciclo térmico. O diâmetro, a profundidade e o comprimento do canal do modelo apresentado são de 250 μm , 100 μm e 1512 μm , respectivamente. A amplificação de proteínas do DNA com 700 pares básicos foi demonstrada num tempo total de 30 minutos e em 25 ciclos. A velocidade do fluxo foi de 1 $\mu\text{l}/\text{min}$. Outros dispositivos foram demonstrados com muito baixo consumo [33].

Ambas as reações PCR (em câmara e de fluxo contínuo) continuam, atualmente, a ser bastante utilizadas.

A sequência do DNA contém as instruções do funcionamento de uma célula, uma pequena amostra deste ácido nucleico permite o acesso a informações genéticas de tal forma relevantes que a criação de bibliotecas biológicas com bancos de informação genética são hoje uma realidade. Com a sequência do DNA pode-se determinar a ordem dos três milhões de pares de bases químicas que o formam e a partir daí é possível identificar os genes, como se codificam e como se regulam [30]. A sequência do DNA foi tradicionalmente realizada em géis viscosos. Recentemente, a eletroforese capilar em matriz provou ser um método de alta velocidade e elevada produtividade para determinar a sequência do DNA. Esta técnica, implementada num microssistema, torna a análise ainda mais rápida e mais eficiente devido aos curtos canais de separação e à injeção de pequenas porções de amostra. Paegel *et al.* apresentaram um dispositivo microfabricado para realizar a sequência do DNA com elevada produtividade baseado na técnica descrita. Consiste em 96 canais agrupados numa conformação radial. Foi relatado que o microssistema apresentou uma taxa de sequência 10 vezes superior aos aparelhos comerciais [34].

A inovação tecnológica introduziu no processo de análise de material genético o formato miniaturizado de *chips* de DNA e também propiciou ao processo de análise da estrutura de proteínas o mesmo desenvolvimento. Os sistemas para proteínas, miniaturizados e combinados com os métodos de detecção de biomoléculas, são uma ferramenta poderosa.

Os microssistemas para proteínas geralmente utilizam a técnica da cromatografia ou eletroforese para a separação das proteínas nas suas biomoléculas e compostos simples. O domínio da técnica de separação por eletroforese face à cromatografia tem sido uma tendência geral nos microssistemas. Do ponto de vista de implementação do sistema a miniaturização dos sistemas de cromatografia envolve desafios técnicos que não são normalmente necessários na eletroforese.

A cromatografia é a técnica de separação mais utilizada nos sistemas convencionais e a implementação desta técnica em microssistemas continua a ter importância. Regnier *et al.* desenvolveram um microssistema para cromatografia cuja aplicação foi eficientemente demonstrada na separação da rodamina 123 e, por outro lado, pela técnica da eletroforese a separação é abordada em [35].

Os microssistemas para eletroforese capilar surgiram paralelamente à proposta da cromatografia em microssistema. O primeiro microssistema que relatava a separação de moléculas por eletroforese capilar foi apresentado pela equipe de Manz em 1992 [36]. Fabricado em vidro, o seu funcionamento foi demonstrado na separação da fluoresceína e da calceína de uma amostra de sangue, em 5 minutos. Muitas separações foram subsequentemente realizadas em microssistemas com desenhos similares, tais como: pequenas moléculas de matéria corante e classificação de aminoácidos. Paralelamente, outros grupos desenvolveram técnicas similares.

Jung-Feng et al. apresentaram o LabChip, Figura 1.2.5- 2, que avaliou a eficiência de dois métodos para analisar soros de proteínas humanas. Neste estudo do LabChip e do SDS-PAGE tradicional (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis) os resultados preveem que tanto LabChip como SDS-PAGE podem ser usados para analisar amostras de soro de proteínas, mas no entanto, o LabChip é realmente mais adequado para quantificar soros de proteínas e pode completar a tarefa dentro de 30 minutos, uma execução muito mais rápida do que atingida com o SDS-PAGE. A separação, detecção e quantificação foi demonstrada eficientemente para a análise automatizada de 10 amostras em até 30 minutos neste microssistema [37].

Figura 1.2.5- 2: Protein LabChip - Agilent Technologies [37].

As análises imunológicas são extremamente importantes e cruciais na descoberta de vírus, bactérias e, portanto, de novas doenças. Os sistemas convencionais requerem um tempo de análise bastante longo e grandes quantidades de reagentes anticorpos, reagentes estes bastante dispendiosos. Realizar estas análises num microssistema, exemplificado na Figura 1.2.5- 3, vem demonstrar claramente as suas vantagens comparativas e exemplos de um microssistema para testes imunológicos encontram-se em [38].

Figura 1.2.5- 3: Chip para imunoensaios [38].

O posicionamento e manuseamento preciso de células requer que os dispositivos tenham dimensões da ordem de grandeza das próprias células, dos vírus ou mesmo das macromoléculas. Assim, os microssistemas são mais apropriados que os sistemas convencionais [39]. Além disso, têm tempos de resposta rápidos, fácil esterilização e permitem a construção de sistemas complexos. Mais ainda, muitas células e tecidos são sensíveis ao pH e outros gradientes iónicos. Apenas nos microssistemas esses gradientes podem ser gerados, estabilizados e controlados numa escala micro. Um exemplo de aplicação de um microssistema nessa área foi fabricado em PDMS (*PolyDiMethylSiloxane*), composto por canais de fluxo testados para aplicações em pesquisa na área das neurociências para detectar drogas numa cultura de células neuronais [40].

Microssistemas para a detecção da cisteína no plasma sanguíneo por eletroforese capilar, cujas condições de separação e detecção implementadas são as mesmas dos sistemas convencionais para a mesma aplicação, mas em tempos menores que 2 minutos, são descritos na literatura, assim como dispositivos para separar múltiplas bactérias do sangue por eletroforese de alta eficiência, sem a utilização de múltiplos anticorpos, onde se podem detectar a doença no seu estado inicial.

Sistemas baseados em ISFET, geralmente aplicáveis na medição do PH de soluções [41], exemplo apresentado na Figura 1.2.5- 4, vêm ocupando notoriedade em muitas outras aplicações, como por exemplo, no processo de metilação do DNA que é um processo pelo qual os grupos metilo são adicionados ao DNA. A metilação modifica a função do DNA, normalmente agindo para suprimir a transcrição do gene. Metilação de DNA é essencial para o desenvolvimento normal e está associada com um número de processos chave, incluindo impressão genômica, inativação do cromossoma X, a supressão de elementos repetitivos, e a carcinogênese. O artigo [42][41] apresenta o conceito de usar um circuito de leitura baseada em ISFET para a detecção da metilação do DNA que dá uma resposta distinta uma vez que uma determinada percentagem de metilação é atingida. Isto permite o desenvolvimento de uma ferramenta para a detecção precoce de vários tipos de câncer utilizando uma abordagem minimamente invasiva, por determinar as diferenças entre um gene patogênico através do desenvolvimento do câncer através da metilação. Análise de tais marcadores baseiam-se na proporção de locais metilados que apresentam uma proporção acima do limiar de um valor pré-definido empiricamente utilizando para tanto o ISFETs em CMOS standard.

a)

b)

Figura 1.2.5- 4: (a) Diagrama esquemático do protótipo do microsistema no qual os sensores ISFET estão incluídos; (b) fotografia do microsistema fabricado -

<http://tmec.nectec.or.th/public/uploaded/products/isfet/ISFET-2/TMEC%20ISFET%20Datasheet-2.pdf>

O desenvolvimento de um dispositivo chip-microfluídico de eletroforese capilar para separação do oxalato de uma amostra de urina, baseado no polímero PMMA (*PolyMethylMethAcrylate*), usa o UV/Vis para detecção dos perfis de marcadores urinários relacionados com perturbações do metabolismo, de interesse para o diagnóstico clínico, possui um controle por válvula on-chip de material ferrofluído para a diluição de amostras que pode ser ajustada mudando a proporção em volume entre o analito e o tampão. Usando um mínimo volume injetado da amostra de 0,1 ml, até uma diluição de 100 vezes pode ser

alcançada. A repetibilidade apresentada é bastante satisfatória e em uma medição em 0,2 μL , um pico de 2 mM de oxalato foi obtido [43].

A maior parte dos microssistemas são implementados para análise sanguínea, contudo surgem rapidamente outros dispositivos para análise de outros fluidos biológicos. A análise de amostras de urina com elevados níveis de aminoácidos como um indicativo de desordem do metabolismo dos aminoácidos foi realizada, num microssistema utilizando a separação por eletroforese com um método de detecção de espécies não fluorescentes utilizando marcadores de mobilidade fluorescentes. Esta técnica aproveita-se da isotacoforese (ITP), tanto para a pré-concentração como para a separação. É empregado um eletrólito líder (LE), eletrólito de arraste (TE), e um conjunto de marcadores de mobilidades fluorescentes projetados para limitação da mobilidade dos analitos de interesse não fluorescentes. Foi demonstrado o sucesso na pré-concentração, separação e detecção de aminoácidos não marcados, serina, glicina, e fenilalanina; e de ácido acético, ácido aspártico, e ácido 3-fenilpropiónico. Verificou-se a detecção da concentração de 12 μM de analitos com uma relação sinal-ruído de 4,0 e com um elevado grau de repetibilidade [44].

Microssistemas que sejam de fácil manuseio, portáteis e que tenham um custo comparativo em relação aos testes de diagnósticos realizados com fita reagente, mas que forneçam resultados quantitativos confiáveis, ainda são uma esperança. Exemplos dessas lacunas são microssistemas para quantificar proteínas e outras biomoléculas da urina, do fluido cerebrospinal e mesmo do plasma sanguíneo. Estes devem incluir um sistema de leitura dos resultados que permita na hora e no local determinar os valores dessas biomoléculas, de forma a obter-se imediatamente um diagnóstico definitivo. A chave para o equacionamento dos principais problemas da saúde pública moderna é a descentralização dos equipamentos de diagnóstico clínico. É desejável melhorar a relação médico-paciente e reduzir o tempo de diagnóstico, bem como minimizar o tempo de internação hospitalar. O desenvolvimento de microssistemas para dar suporte às condições médicas, isto é, monitorar os valores anormais de moléculas vitais ao funcionamento fisiológico do corpo humano, pode incrementar produzir melhores condições de melhorias na eficiência e na eficácia dos diagnósticos clínicos.

A Roche apresentou ao mercado em meados de 2003 um dispositivo específico para análises de rotina de urina, o Urisys1100. Este dispositivo, permite analisar um máximo de 10 biomoléculas ou compostos da urina simultaneamente [45]. Contudo, o método utilizado é o da fita reagente embebida em urina. Note-se que nos laboratórios de análises clínicas os reagentes existem na forma líquida. Uma desvantagem deste módulo é a possibilidade de

contaminação das amostras devido ao manuseio da régua suporte das fitas reagentes por resíduos que afetem a leitura. Outra desvantagem face aos equipamentos convencionais dos laboratórios de análises clínicas é que os resultados são quantitativos apenas quando os valores se encontram fora da faixa de valores normais. Caso contrário, o resultado indicado será de NEG (negativo) ou NOR (normal), relativamente a biomolécula a analisar. É óbvio que como um primeiro diagnóstico estes resultados qualitativos servem. Contudo, em alguns casos o valor quantitativo pode estar no limite dos valores anormais, isto poderia indicar um indício da doença não detectado.

1.2.6 Conceito de microssistema de fluidos biológicos

O conceito de um microssistema para análise de fluidos biológicos relaciona-se com um dispositivo capaz de realizar todos os procedimentos necessários para a análise de uma amostra. O seu projeto deve ser atualizado em relação a tecnologia disponível para a sua fabricação, sendo necessária a busca contínua de novos materiais, novas técnicas de fabrico, novas estruturas e desenhos de microcanais, novos sistemas de leitura dos resultados e novas interfaces com o exterior. A integração de todos estes conceitos em um único *chip* é um grande desafio. De forma geral, os *chips* ou os circuitos integrados são previstos para serem fabricados em média e larga escala para que possam amortizar os custos de desenvolvimento e de fabricação. Deste modo, é desejável que o microssistema possa permitir que alguns dos seus componentes sejam montados em várias e independentes configurações, e sejam baseados em componentes de uso geral, sendo então a configuração específica completa de um microssistema modular de custo individual adequado em baixa escala de "montagem".

Um microssistema para análise de fluidos biológicos por espectrofotometria é, normalmente, composto por dois módulos distintos. Um deles contém os canais nos quais circulam os fluidos. O outro inclui o sistema de detecção e leitura dos resultados da análise. O módulo para a circulação dos fluidos pode ser fabricado em vidro, em polímero ou mesmo em silício. Neste último caso, o sistema de detecção não pode ser baseado em medições ópticas, uma vez que o silício não possui transparência na região visível do espectro eletromagnético. Atualmente, é uma tendência dominante o uso de materiais poliméricos, principalmente quando se pretende que o dispositivo de canais seja descartável. Neste caso, a contaminação entre as diversas análises deixa de ser um problema e minimiza o custo de produtos e processos de limpeza dos canais de circulação dos fluidos. Note-se que o custo de um

dispositivo de polímero, quando produzido em larga escala, é muito baixo. O sistema de detecção e leitura dos resultados inclui um detector óptico e uma eletrônica de leitura. Esta eletrônica realiza a conversão do sinal do detector em um sinal digital para posterior aquisição e tratamento dos dados num computador. Todos estes módulos, incluindo o detector, podem ser fabricados utilizando processos *standard* de microeletrônica, o que possibilita a integração do detector, da eletrônica de leitura e permitem a adição de circuitos suplementares num único *chip*.

Um microssistema como o proposto e descrito abre a possibilidade de fazer análises dos fluidos biológicos (tais como: sangue, urina, saliva, fluido cerebrospinal) além do local do laboratório clínico, também no consultório médico e nos chamados "pontos de cuidado". Adicionalmente apresenta a possibilidade virtual da integração automática aos meios de comunicação atuais (celular, computador pessoal, tablet e sistemas multimídias) para envio e recebimento dos resultados e dos procedimentos a distância, através dos modernos canais de comunicação.

1.2.7 Microssistema laboratorial: EspectroLab

A escolha da urina como um fluido biológico para ser avaliado em microssistemas em teste pode ser feita baseada no fato de que uma amostra de urina poder ser diretamente utilizada nas medições, enquanto que na maior parte das análises do sangue, por exemplo, é necessário separar o plasma e o soro sanguíneo. Ademais, a urina é o fluido biológico com menos viscosidade e por isso mais fácil de fluir nos canais a serem implementados. Contudo, outros fluidos biológicos podem ser utilizados no mesmo sistema desde que a análise seja realizada de forma normalizada. O dispositivo proposto neste trabalho é composto por dois módulos: o sistema de detecção espectral e o sistema de circulação dos fluidos. Sendo que o sistema de detecção espectral é composto por um FIV sobreposto em pós-processamento a um dispositivo detector matricial tipo CCD, PDA ou PSD que são assim acoplados para formar um sistema detector espectral e, sobre estes, é disposto o sistema de microfluídica, conforme esquematiza a Figura 1.2.7- 1.

Os sistemas de circulação dos fluidos ou sistema de microfluidos do protótipo realizado neste trabalho foram fabricados em vidro e em PDMS. No caso do vidro são constituído por três lamelas, cada uma com 1 mm de espessura e canais usinados com 1 mm

de largura; no caso do PDMS (*PolyDiMethylSiloxane*), são conformados para profundidades de canais de 27, 82, 85 e 200 microns, conforme a Figura 1.2.7- 2.

Figura 1.2.7- 1: Esquema pictórico da estrutura da básica do sistema para espectrofotometria.

No primeiro caso, sistema de circulação em vidro, a primeira lamela deve ter os orifícios para a injeção e remoção dos líquidos, a segunda deve incluir os canais do misturador e a terceira funciona como tampa para fechamento do sistema que é selado através de cola para vidro de cura UV. O sistema de canais em vidro do protótipo do EspectroLab contém basicamente três canais; um canal, para predispor a detecção da linha de referência; outro canal, para conter o fluido a ser analisado e, com uma derivação formando duas entradas, permitir a condução do fluido para ser misturado com o reagente de forma automática; e, por fim, o terceiro canal foi projetado para facilitar a calibração da concentração da biomolécula em análise e, para isso, deve utilizar um padrão de concentração conhecida, além das respectivas saídas.

Figura 1.2.7- 2: Sistemas de microcanais realizados: a) em vidro e b) em PDMS.

O sistema de microcanais em PDMS foi projetado e executado para conter os orifícios para injeção e remoção dos líquidos, os canais do misturador e a área de detecção. Neste caso,

os microcanais em PDMS, possui a derivação para duas entradas simultâneas e uma área de detecção simples sem divisões.

O FIV têm como função selecionar os comprimentos de onda dentro do espectro eletromagnético da luz visível numa faixa pré-definida na fase de projeto para adequação à análise das biomoléculas, compostos ou espécies químicas que se pretende analisar. Ao contrário de sistemas que usam um único filtro óptico de banda passante ou uma matriz destes filtros, o FIV permite medir inúmeras biomoléculas diferentes com a mesma estrutura. O EspectroLab também permite a utilização de uma ou mais fontes de luz, atualmente facilmente disponíveis, como lâmpadas, LEDs e Lasers.

O sensor da radiação luminosa do sistema detector espectral é um circuito ativo que contém uma matriz de elementos sensíveis tal como um PDA (*Phodiode Array*), CCD (*Charge Coupled Device*) ou PSD (*position sensor device*), o elemento escolhido é então empregado para avaliar a banda espectral correspondente a área de cobertura do FIV montado sobre ele, este conjunto (mencionado e esboçado na introdução, pg. 26) é então apropriado para medir a intensidade da luz que alcança cada *pixel* (*Picture e Element*) e que representa um canal espectral estreito do feixe de luz transmitido. O circuito ativo de matriz de fotodiodos pode ser desenvolvido através do processo CMOS (*Complementary Metal Oxide Semiconductor*) *standard*, ou pode ser obtido entre os disponíveis no mercado. O feixe luminoso, com várias componentes espectrais, é então decomposto pelo FIV e avaliado pelo circuito de matriz de elementos fotossensíveis individualmente em cada *Pixel*, perfazendo este conjunto detector que, dependendo do número de bandas espectrais selecionadas pelo FIV e avaliadas em um certo número de *Pixels* representativos destas bandas espectrais, poderá ser classificado como sendo multicanal, multiespectral, hiperespectral ou ultraespectral, obtendo-se em cada *Pixel* correspondente a uma posição definida no FIV apenas um canal espectral de banda estreita que integrados constituem a reconstituição do espectro incidente. Neste trabalho, um PDA é posicionado exatamente debaixo da área ativa do filtro óptico, Figura 1.2.7- 3. Para converter o sinal analógico dos fotodetectores num sinal digital, um conversor luz-tensão está integrado neste mesmo PDA. O funcionamento do EspectroLab baseia-se no princípio da detecção espectrofotométrica por absorção óptica. Uma amostra de fluído na qual se encontra a biomolécula a ser analisada poderá ser injetada na entrada correspondente do sistema de canais de onde será conduzida e misturada a um determinado reagente e o produto resultante, ao atingir a área de detecção, deverá absorver uma parcela de uma determinada componente espectral da radiação, ou seja, uma cor, e será devidamente analisada, pois a intensidade dessa cor é diretamente proporcional à concentração da biomolécula em análise e,

a medição dessa intensidade, consiste a detecção colorimétrica. Para tanto, um feixe de luz é direcionado para a zona de detecção onde se encontra a mistura a analisar. A intensidade da luz transmitida através da mistura é medida por fotodetectores do PDA colocado por baixo da zona de medição. Desta forma, consegue-se quantificar a concentração de biomoléculas existentes em fluidos biológicos.

Figura 1.2.7- 3: Fotografia de uma opção de montagem do EspectroLab: incorporação de um PDA OEM.

1.2.8 Microssistemas de microfluidos

Este tópico aborda os fundamentos e as possibilidades da estrutura de canais de circulação dos fluidos químicos e/ou biológicos da aplicação em que se apoia o FIV desenvolvido. Para estabelecer as definições é necessário se considerar o formato e a geometria dos canais, o tipo do fluxo (laminar ou turbulento), o processo de reação dos fluidos, as propriedades dos fluidos que circulam nesses canais, o regime de escoamento e o provável aparecimento de bolhas de ar nesses canais devido às suas pequenas dimensões.

Para dar conta de equacionar todos os parâmetros de uma aplicação definida, é possível lançar mão das ferramentas de simulações computacionais disponíveis, de maneira a se obter um modelo dinâmico tridimensional de fluidos que seja adequado para realizar o processo de mistura do fluido químico ou biológico com um determinado reagente. Neste tópico não se pretende realizar uma introdução à teoria da mecânica de fluidos senão apenas mencionar as propriedades a serem consideradas. Um aprofundamento sobre este assunto pode ser obtido na bibliografia [46].

1.2.9 Análise das características dos sistemas de microfluidos

A avaliação dos mecanismos de mistura de fluidos em dispositivos miniaturizados, como um microcanal, é uma tarefa complexa. As pequenas dimensões dos sistemas de microfluidos, onde o fluxo deve ser normalmente laminar e não turbulento, o tempo é o parâmetro principal. A difusão nos microcanais é praticamente o único processo para misturar os fluidos e uma mistura eficaz entre dois ou mais fluidos pode depender de manipulá-los ou orientá-los de forma que a área de contato entre eles seja aumentada enquanto que a distância na qual a difusão deve ocorrer seja a menor possível para que o processo de mistura seja completado num tempo aceitável.

Por outro lado, em dispositivos macroscópicos a mistura é normalmente realizada usando a turbulência através de atuadores mecânicos ou estruturas de fluxo tridimensional, porém, quando se deseja utilizar os sistemas de microfluidos que são realizados utilizando técnicas de fotolitografia, o processo de mistura é, como visto acima, geralmente diverso.

1.2.10 Misturadores

Os mecanismos misturadores nos microcanais de microssistemas podem ser classificados como ativos ou passivos. Os primeiros, chamados ativos, são aqueles onde o processo de mistura ocorre pela aplicação de uma força externa adicional ao transporte do fluido como por exemplo, um movimento induzido por um campo elétrico ou um campo magnético. Os segundos, chamados passivos, não utilizam essa força e a mistura é produzida por difusão ao longo do tempo de circulação do fluxo nos canais e, assim, devem ter um comprimento suficiente para assegurar a mistura uniforme no tempo desejado. Porém, esta concepção pode acarretar canais longos de acordo com a necessidade do aumento da velocidade de circulação do fluxo, e/ou quando a mistura envolver moléculas grandes e/ou com baixos coeficientes de difusão. Uma explanação aprofundada poderá ser encontrada em [47][48].

1.2.11 Caracterização do Fluxo

A manipulação de fluidos em quantidades da ordem de microlitros implica em um número de Reynolds pequeno correspondendo a um fluxo laminar. O número de Reynolds é definido, Eq.1.2.11- 1, assim:

$$R_e = \frac{\rho v L}{\nu} \quad \text{Eq.1.2.11- 1}$$

onde ρ é a densidade em Kg/m^3 , v a velocidade em m/s , ν a viscosidade em N s/m^2 e L é uma distância característica interna do sistema, geralmente num canal o L_p representa a profundidade do canal em metros. Num sistema de microfluidos a variável L_p será em geral igual ou inferior a $500\mu\text{m}$. O número de Reynolds, parâmetro adimensional, é usado para caracterizar o movimento do fluxo, de forma a determinar se o fluido está na zona de fluxo laminar, turbulento ou na zona de transição. Normalmente, um número de Reynolds inferior a 1500 indica que o fluxo é laminar. Assumindo-se que a maior velocidade de um fluxo como sendo da ordem de $v = 10 \text{ mm/s}$, considerando-se o fluido água ($\rho = 10^3 \text{ kg/m}^3$ e $\nu = 10^{-3} \text{ N s/m}^2$) e $L_p = 250\mu\text{m}$, pode-se dizer que um limite superior do número de Reynolds será de $Re = 2,5$. Como a turbulência ocorre quando $Re > 1500$ os fluxos deverão ser laminares nestes microcanais. Assim, não se deve considerar a turbulência como um mecanismo para a mistura dos fluidos nestes casos. Analogamente, deve-se excluir o uso de geometrias complexas e de atuadores mecânicos, como já foi mencionado em 1.2.9.

1.2.12 Difusão

A forma e o tamanho dos microcanais em microssistemas de fluídos definem as condições para os efeitos da difusão como o único mecanismo para a mistura dos fluidos. O comprimento da ocorrência da difusão deve estar dentro da dimensão do canal de circulação do fluido para um dispositivo planar. A difusão, Eq.1.2.12- 1, é causada pelo elevado gradiente da concentração das moléculas do fluido, que existe quando dois líquidos diferentes têm uma interface em comum. A chave para a mistura de fluídos é a difusão que pode ser modelizada pela lei de Fick para determinar o fluxo de difusão de uma determinada molécula em função da variação da concentração com a distância é,

$$J = -D \frac{\partial C}{\partial x} \quad \text{Eq.1.2.12- 1}$$

onde J é o fluxo das moléculas dado em **partículas/(m²s)**, D é o coeficiente de difusão em m²/s e C é a concentração das moléculas em **partículas/m³**. O tempo médio para a difusão de uma partícula numa determinada distância d pode ser dado pela Eq.1.2.12- 2:

$$T_D = \frac{L^2}{D} \quad \text{Eq.1.2.12- 2}$$

onde L é o comprimento efetivo para a mistura. Daí depreende-se que a mistura devido apenas à difusão pode resultar em tempos de mistura bastante elevados. Como por exemplo, uma mistura de sal e água usando um comprimento efetivo de $L = 1\text{mm}$ resulta em um tempo médio de difusão $T_D = 10^3\text{s}$ (sendo o coeficiente de difusão do sal na água é $D = 103\mu\text{m}^2/\text{s}$) [3] [48].

1.2.13 Modelização

Para se obter geometrias adequadas para os canais são muito importantes as técnicas de modelização. O equacionamento dos problemas de fluidos é normalmente expresso por intermédio de equações diferenciais de difícil solução analítica. É usual recorrer à uma divisão do sistema de equações derivadas num número finito de pequenas regiões denominadas de elementos finitos. Para a escala microscópica, é utilizada a dinâmica molecular, considerando-se as moléculas de um fluído como elementos rígidos e pontuais que se colidem uns com os outros. Na escala macroscópica, um exemplo de técnica utilizada é a de elementos finitos, que basicamente divide o domínio de simulação em pequenas regiões para as quais os valores de velocidade e de pressão são calculados numericamente baseando-se nas equações de continuidade e de Navier-Stokes. Por outro lado, na escala intermediária entre as dimensões microscópica e macroscópica, pode-se fazer uso do conhecimento de mecânica estatística e das equação de Boltzmann para se obter valores macroscópico de densidade e velocidade a partir de funções de distribuição de partículas [48].

Programas de modelização não necessitam que o usuário configure os sistemas de equações para um determinado problema, mas que apenas introduza a geometria, as propriedades físicas dos materiais e escolha o método de solução das equações do sistema . Por outro lado, é necessário entender as bases do método para interpretar os resultados [49].

Ferramentas de simulação para a área de dinâmica de fluídos pelo método dos elementos finitos, como por exemplo o COMSOL [50], ou pelo método de Lattice Boltzmann, como o LBSim (Lattice Boltzmann Simulator) [51], entre outros, estão disponíveis.

A geometria básica de canais escolhida para a mistura e circulação de fluidos pode ser vista na foto da Figura 1.2.7- 3. O formato dos canais é adequado para o processo de medição através de absorção óptica considerando-se a reflexão da luz. O reagente e o fluído são introduzidos no canal em forma de U através das entradas 1 e 2, respectivamente. Eles podem ser injetados através de uma seringa de forma a minimizar o aparecimento de bolhas de ar.

O processo de difusão dos líquidos começa na junção do U com o canal principal e continua ao longo de todo o canal até a câmara de detecção. Os canais fabricados são de 27, 82 e $200\mu\text{m}$ de largura e $100\mu\text{m}$ de profundidade. O canal principal tem 70 mm de comprimento e 7 curvas em U. A câmara de detecção tem 8 x 10 mm.

A detecção colorimétrica é efetuada quando a mistura se encontra na câmara de detecção. Por baixo desta encontram-se os fotodetectores que medem a intensidade da luz transmitida através da mistura. A área da câmara de detecção é dependente da área ativa dos fotodetectores e vice-versa.

Da equação Eq.1.2.12- 2 determina-se que, por exemplo, o tempo médio para a difusão do ácido úrico na urina é de $T_D=34,5$ s, com $L=75$ mm e $D = 163\mu\text{m}^2/\text{s}$. Este processo embora mostre um tempo de difusão lento, mostra-se adequado considerando-se que o tempo para a reação se completar é de aproximadamente 5 minutos. Normalmente, as reações colorimétricas possuem um tempo de mais de um minuto. As propriedades dos fluidos relevantes para as simulações são: o peso molecular, a densidade, a viscosidade, a condutividade térmica e o coeficiente de difusão.

Normalmente, o processo de medição pelo processo colorimétrico de absorção óptica exige um caminho óptico de $500\mu\text{m}$, com o objetivo de diminuir a largura dos canais, foram realizados canais de largura de 27, 82 e $200\mu\text{m}$ mantendo-se a geometria do modelo e ajustadas as condições do ensaio para os volumes de amostra e reagente com o objetivo de misturar as biomoléculas de ácido úrico presentes numa amostra de urina com o reagente que possibilita a detecção colorimétrica do ácido úrico em um determinado tempo de circulação do fluxo. Esta abordagem e modelo geométrico deve confirmar a validade em se fabricar o misturador utilizando técnicas de fotolitografia, como as usadas no fabrico de dispositivos semicondutores.

1.2.14 Cinética química

Uma reação em solução aquosa entre um reagente e a amostra a ser analisada normalmente envolve a ligação das partículas do reagente com as moléculas da substância em análise. Sendo A o reagente, C a substância a analisar e AC o complexo das partículas do reagente com as moléculas da substância em análise, a reação química pode-se definir conforme a Eq.1.2.14- 1 do seguinte modo,

onde K_a e K_d são as constantes de associação e dissociação em $l/(\text{mol s})$. As taxas da reação são definidas por, Eq.1.2.14- 2,

$$V_a = K_a[A][C], \quad V_d = K_d[AC] \quad \text{Eq.1.2.14- 2}$$

onde V_a é a taxa da reação para a associação de A e C e V_d é a taxa da reação para a dissociação de AC. As letras entre colchetes representam as concentrações das moléculas em mol/l. Este processo pode ser indicado pelo esboço apresentado na Figura 1.2.14- 1 [52].

Figura 1.2.14- 1: Esboço esquemático das atividades em torno da molécula em análise. A molécula move-se com uma certa velocidade na amostra enquanto que o reagente efetua a ligação (governado pela cinética).

2 Fotodeteccção

A radiação, no sentido geral, pode consistir de partículas carregadas (elétrons, prótons e núcleos atômicos dentre outras partículas elementares), partículas neutras (nêutrons e partículas elementares), e radiação eletromagnética: micro-ondas, infravermelho, visível, ultravioleta, raios X e raios gama.

A luz, como um fenômeno eletromagnético, é descrita pelos princípios teóricos da radiação eletromagnética. O espectro de comprimentos de onda óptico contém três faixas: ultravioleta (10 a 390 nanômetro), visível (390 a 760 nanômetro) e infravermelho próximo (760 nanômetro a 1 micrômetro) [11] [54]. A luz visível cobre somente uma parte pequena do espectro eletromagnético inteiro, porém é a única parte que pode ser percebida pelo olho humano, contudo, através de sua interação com a matéria, a luz pode ser detectada.

O surgimento dos fotodetectores pode ser datado de 1873 quando Smith descobriu a fotocondutividade no selênio. Em 1905 Einstein explicou o efeito fotoelétrico e Planck resolveu o enigma da emissão do corpo negro introduzindo a hipótese dos quantas. A fotolitografia permitiu a fabricação de dispositivos para formar imagem de planos focais para o espectro visível a partir dos idos anos 1960s [53]. E um grande progresso foi experimentado nesta área com o surgimento dos PDA e CCD's. A radiação absorvida por um detector interage com ele produzindo alguma forma de sinal elétrico que pode ser processado por um circuito eletrônico associado ao mesmo. A sensibilidade deste sistema está, grosso modo, relacionada com o menor nível de intensidade de radiação incidente e que pode ser detectada.

2.1 Detectores Térmicos e Detectores Quânticos

Um detector óptico é um dispositivo que converte um sinal óptico num sinal elétrico. Existem vários tipos de detectores, tais como termopares, detectores piezelétricos, tubos fotomultiplicadores, fotodiodos semicondutores, etc. Os detectores podem ser classificados segundo seu princípio de funcionamento em térmicos ou quânticos, tal como segue:

2.1.1 Detectores Térmicos

Em geral, nos detectores térmicos, a energia eletromagnética absorvida provoca o aquecimento do dispositivo. Isto provoca a alteração de alguma propriedade do material que normalmente é uma função da temperatura, que pode ser avaliada através da medida direta da temperatura (calorimetria), da medida da variação da resistência elétrica do material ou medida de um sinal de corrente ou da tensão termoelétrica (termopares e termopilhas). Este tipo de detector tem uma resposta proporcional à energia total incidente e praticamente independente de um comprimento de onda da radiação. Devido à inércia térmica dos processos (absorção e troca de calor), este tipo de sensor apresenta, relativamente, longos tempos de resposta ($>10\text{ms}$) e geralmente não precisam de refrigeração. Entre os principais tipos de detectores térmicos estão, termopilhas, detectores piroelétricos e bolômetros [54] e [55].

2.1.2 Detectores Quânticos

Nos detectores quânticos ocorre a conversão direta dos fótons incidentes em portadores de carga através da transição eletrônica em um material semicondutor. Os detectores quânticos podem ser construídos e operados sob duas formas diferentes: fotocondutor (fotoresistor) ou fotovoltaico (fotodiodo).

Fotocondutores – No caso do fotocondutor, os fótons absorvidos provocam um aumento na população de portadores de carga (elétrons ou buracos) fazendo com que a resistência elétrica do dispositivo varie. O circuito de aplicação é análogo ao usado para um bolômetro; todavia a diferença fundamental é que na transição eletrônica, os tempos de resposta são bem menores que aqueles dependentes do acoplamento e inércia térmica do dispositivo e, ressaltando outra diferença também fundamental, para os detectores quânticos, principalmente aqueles de “*gap*” estreito, a taxa de portadores gerados devido à radiação de fundo na temperatura ambiente é relativamente alta, impondo a necessidade de operação com refrigeração para manter a eficiência.

Fotodiodos – Um fotodiodo é formado por uma junção p - n , onde surge a formação de uma zona de transição entre uma região de material semicondutor cuja condutividade elétrica é dominada por portadores de carga tipo- n (elétrons) e uma região cuja condutividade é

dominada por portadores de carga tipo-*p* (buracos). A largura w e a simetria dessa região dependem dos processos de fabricação e dos materiais empregados.

Devido ao baixo custo e bom desempenho, os fotodiodos semicondutores são os detectores ópticos mais utilizados nos sistemas ópticos. Entre os fotodiodos semicondutores destacam-se o fotodiodo tipo PIN (P-dopado, I-intrínseco, N-dopado) e o tipo APD (fotodiodo de efeito avalanche).

O princípio fundamental da detecção óptica é a absorção óptica, pois quando um feixe de luz incide num semicondutor, a luz pode ser absorvida (ou não) dependendo do comprimento de onda. Se a energia do fóton for superior à energia de banda do semicondutor então ele é absorvido formando um par elétron-buraco. Se $\mathcal{E}_g$ (energia de *gap* $\mathcal{E}_g$ representa o intervalo de energia entre as bandas de valência e condução do semicondutor) for a energia de banda do semicondutor, então o comprimento de onda máximo λ_c absorvido (ou comprimento de onda de corte) é dado por [55]:

$$\lambda_c = \frac{hc}{\mathcal{E}_g} \quad \text{Eq.2.1.2- 1}$$

Onde h e c são a constante de Planck e a velocidade da luz no vácuo, respectivamente. Substituindo esses valores para obter λ_c em nanômetros, resulta:

$$\lambda_c = \frac{1,24}{\mathcal{E}_g (eV)} \quad \text{Eq.2.1.2- 2}$$

A Tabela 2.1.2- 1 abaixo exemplifica alguns comprimentos de onda máximos para alguns semicondutores:

Tabela 2.1.2- 1: Energia de banda e comprimento de onda para alguns materiais semicondutores.

	Si	Ge	GaAs	InGaAs
eg(eV)	1,11	0,67	1,43	0,75
λ_c (μm)	1,13	1,85	0,87	1,65

A maioria dos fotodiodos é constituída por uma junção PN que pode ser implementada de dois modos: fotovoltaico e foto-corrente. No primeiro caso os elétrons e buracos são

gerados por absorção no material semiconductor resultando em uma diferença de potencial. No modo foto-corrente o semiconductor é polarizado inversamente e o par elétron-buraco, gerado através da absorção, é separado através do grande campo elétrico provocado na região de depleção. Os portadores são responsáveis pela indução da corrente nos terminais do semiconductor. Por esta razão, estes têm uma resposta proporcional a intensidade da radiação e são os mais utilizados.

Como já mencionado os fotodetectores podem ser divididos em duas categorias: PIN e APD. Ambos os dispositivos geram pares elétron-buraco na região de depleção (ω), tendo o APD um ganho (G) de corrente interno adicional [1]. Considerando-se as disponibilidades, contudo, uma boa escolha em favor de um bom desempenho está relacionada à adequação dos limites fundamentais de sensibilidade, detetividade (Figura 2.1.2 1) e de velocidade de resposta na aplicação pretendida, independentemente do tipo de detector utilizado [55].

Figura 2.1.2 1 – Limite teórico de detetividade. D^* (linhas tracejadas), imposto pelo ruído de fundo e o limite alcançado por diversos tipos de dispositivos fotodetectores de infravermelho, nas temperaturas de operação indicadas. Reproduzido de [54].

3 Análise espectral da luz visível

Fenômenos relacionados à propagação da luz são estudados e descritos por uma área da Física que trata, inclusive, da interação da luz com a matéria. De acordo com a concepção macroscópica, a luz, pela teoria clássica de Maxwell, corresponde a um campo eletromagnético oscilante [56]. A interação microscópica da luz com a matéria, a nível mais fundamental é estudada em sistemas ópticos quânticos [57] que, nesta escala, substitui a teoria clássica. Entretanto, uma faixa muito ampla de fenômenos no mundo macroscópico e em muitos problemas de interesse prático pode ser tratada no âmbito da eletrodinâmica clássica [56]. O campo óptico trata geralmente o comportamento da luz visível, infravermelha, e ultravioleta.

Os resultados e os conceitos obtidos para certas faixas de frequência podem ser transferidos a outras partes do espectro, dependendo das propriedades dos materiais disponíveis para estas frequências e dos aspectos tecnológicos relacionados à manipulação destes materiais. Consequentemente, modelos gerais que podem ser usados em toda uma escala de frequências para descrever apropriadamente fenômenos e dispositivos específicos, são de particular interesse. As estruturas Multicamadas (*Multilayer*) periódicas e suas propriedades ópticas já são bastante conhecidas e acumulam mais de um século de pesquisa. Na maioria das aplicações, as mais comuns são compostas pelos eficientes refletores de Bragg em variadas estruturas de filtro, que são padrão em muitos sistemas ópticos [58]. Nos últimos anos, estruturas com periodicidade espacial em mais de uma dimensão tornaram-se populares. Estas estruturas são conhecidas como cristais fotônicos (*Photonic Crystals* - PC) [10]. E não obstante a pesquisa fundamental e aplicada já acumulada, ou talvez por causa disso, os sistemas ópticos multicamadas têm um papel de grande relevância nos sistemas ópticos atuais.

Com a introdução de defeitos específicos nas configurações que se tornam de certa maneira periódicas, ressaltam-se sobremaneira certas propriedades ópticas de transmissão. Os esforços de pesquisa atuais são dirigidos para a exploração e a utilização destas estruturas como cavidades ressonantes em aplicações tais como os lasers, fotodiodos, filtros, sensores, guias de onda, etc. [58]. Adicionalmente, o conhecimento obtido nas pesquisas de estruturas multicamadas pode ser uma base para o refinamento da interpretação e da compreensão qualitativa (às vezes mesmo quantitativa) de estruturas dos cristal fotônicos em dimensões mais elevadas [10].

A luz visível, esquematizada na Figura 3- 1, corresponde a somente uma parte pequena do espectro eletromagnético completo, porém é a única parte que pode ser percebida pelo olho humano. O olho tem três tipos de receptores: vermelho, verde e azul. Baseado na distribuição espectral da intensidade da onda incidente, uma cor (primária ou uma mistura dos três estímulos) é abstraída mentalmente. Assim, medições mais exatas e seletivas precisam ser executadas pela análise espectral: um processo, em que a faixa inteira da radiação de interesse é separada em seus componentes espectrais e a intensidade de cada componente é medida [59].

Figura 3- 1: Esquema do espectro eletromagnético.

A análise do espectro óptico é realizada frequentemente para determinar as características químicas ou ópticas dos materiais. Muitas aplicações exigem a análise espectral em comprimentos de onda visíveis (390 nanômetros a 830, Figura 3- 1) [59]. Se o objeto analisado representar uma fonte ativa de radiação visível as informações sobre os processos físicos relacionados podem ser avaliados e extraídos das características espectrais da luz emitida. As aplicações típicas são as análises físico-químicas, tais como a espectroscopia atômica (estudo das linhas espectrais visíveis devido à emissão por isótopos), a astronomia e astrofísica (no estudo de fontes extraterrestres), entre outras grandes áreas, ou a fluorescência na modalidades nativa, entre outras técnicas. Por outro lado, alguns objetos não são fontes ativas de radiação visível e, nestes casos, uma fonte luminosa externa calibrada pode ser utilizada. Durante sua interação com o objeto, algum dos componentes espectrais da luz incidente são geralmente absorvidos ou refletidos de maneira diferente em cada material. A análise espectral da luz refletida e/ou transmitida pode, consequentemente, dar informações

sobre a composição e sobre os processos nos objetos envolvidos. Exemplificando: análise bioquímica (sangue humano, músculo, análise espectral da luz visível nos tecidos, fibras do ADN), identificação de nanopartículas, micro-organismos, bio-agentes, toxinas na água, no ar (aerossóis), em alimentos e dispersão da luz por materiais (líquidos, plásticos, polímeros, etc.), inspeção de defeitos de produtos na indústria por meio da determinação da cor, através das técnicas de espectrofotometria, colorimetria, fluorescência estimulada, dentre outras [60].

3.1 Seleção do Comprimento de Ondas

A análise espectral da luz visível é baseada na colorimetria ou no princípio espectrofotométrico. Um dispositivo colorimétrico responde a um determinado espectro óptico, isto é, a uma cor, gerando sinais que correspondem às coordenadas de cromaticidade em um sistema padronizado de colorimetria [59]. Mas, para medir a intensidade de cada componente espectral da radiação, um sensor de colorimetria não é apropriado; então se deve usar um dispositivo espectrofotométrico.

Para executar uma análise espectral, deve-se utilizar um detector seletivo de comprimentos de onda. A parte principal do detector é um elemento que execute temporal ou espacialmente a decomposição da radiação incidente em componentes de banda estreita. Um elemento dispersivo (um prisma, uma grade de difração ou um interferômetro) geralmente é usado para esta finalidade. O método é baseado na dependência angular da deflexão dos comprimentos de onda e no resultado específico para um ângulo de refração (prisma) ou da difração (grade) para cada comprimento de onda. Os prismas exibem uma relação não linear entre o comprimento de onda e o ângulo de refração e não são usados frequentemente em equipamentos avançados. Uma grade de difração consiste em uma placa lisa com muitas linhas ou sulcos paralelos onde um feixe luminoso é difratado. As ondas difratadas interferem entre si e dá forma a um padrão de interferência com uma distribuição angular característica dos componentes espectrais. Em um interferômetro convencional, a seleção do comprimento de onda é executada mudando a diferença do caminho óptico entre dois ou mais feixes que interferem um com outro. De todos os tipos diferentes de interferômetro (Michelson, Fabry-Perot, Fizeau, mach-Zehnder, etc.) [11] a "arquitetura" frequentemente utilizada na construção de um filtro de interferência é o de Fabry-Perot devido às suas características construtivas.

3.2 Tipos genéricos de espectrofotômetros

Os componentes espectrais podem ser medidos, grosso modo, de duas maneiras. Um sistema móvel pode ser usado com um detector e um elemento selecionador do comprimento de onda. O comprimento de onda da radiação a ser detectado é selecionado pela varredura mecânica do elemento selecionador ou do detector (isto é monocromador de varredura). Um espectrofotômetro do tipo matriz usa uma matriz de detectores (PDA) ou uma matriz de elementos selecionadores de comprimento de onda (p.ex. *etalon* de Fabry-Perot - neste caso pode ser dispensado o uso de peças móveis) [61].

Uma ampla faixa de espectrofotômetros, para a análise espectral da luz visível baseada nos diversos elementos de seleção, estão disponíveis no mercado. Estes dispositivos que diferem muito em classes de precisão, têm em comum o fato de serem fabricados de maneira convencional, isto é, consiste num conjunto construído pela utilização de componentes ópticos discretos e de mecânica fina. O parâmetro geral de comparação de diferentes sistemas é o poder de resolução (também chamado de definição), R_d . A resolução R_d é definida como $R_d = \lambda / \Delta\lambda$, com $\Delta\lambda$ sendo a diferença entre menor comprimento de onda distinguível em um comprimento de onda específico, λ .

3.2.1 Espectrofotômetros miniaturizados

Os melhores espectrofotômetros convencionais envolvem um sistema complexo de lentes e peças móveis (e/ou uma matriz de fotodetectores de alta densidade), e são volumosos e caros. Aplicando-se as técnicas *Micromachining*, que constitui o conjunto de processos de fabricação de “*Micro Electro-Mechanical Systems*” [62] (MEMS), pode-se produzir espectrofotômetros com tamanho e custos drasticamente reduzidos. Além disso, um certo número desses sistemas pode ser combinado para otimizar uma determinada escala espectral e/ou uma resolução esperada. Adicionalmente, um dispositivo óptico integrado tem um sem número de vantagens sobre um sistema óptico convencional, tal como um conjunto simplificado, um alinhamento estável, um tamanho compacto. A vantagem dimensional de um espectrofotômetro miniaturizado tem, em muitas aplicações, uma importância mais elevada do que a sua resolução. A tecnologia *micromachining* de silício criou novas oportunidades para sistemas ópticos e optoeletrônicos. Porém, neste caso específico do

emprego do processo e das técnicas de MEMS, o custo do desenvolvimento do processo de fabricação normalmente é alto e deve ser diluído em uma escala de produção de alto volume.

Um espectrofotômetro pequeno, portátil e de custo efetivo compatível com um lote reduzido de produção, tem um potencial enorme para atender as necessidades de sistemas de laboratórios técnicos, científicos e industriais. A identificação da composição de gases e de líquidos, a análise química pela absorção óptica, a caracterização de emissões, a colorimetria e a análise bioquímica são algumas das aplicações onde um espectrofotômetro miniaturizado pode ser aplicado com muitas vantagens.

A realização de espectrofotômetros miniaturizados por diversas tecnologias já foi extensamente demonstrada e sistemas baseados em filtros Fabry-Perot foram desenvolvidos por diversos grupos de pesquisa [63] a [71].

Considerando a afinidade do modelo da cavidade de Fabry-Perot com processos de microeletrônica, isto é, compatibilidade com os processos e facilidade de micro-miniaturização, muito bons resultados foram obtidos inclusive de microssistemas ópticos baseados em uma matriz de *etalons* de Fabry-Perot executado em tecnologia CMOS (*complementary metal oxide semiconductor*) [70] e [71]. Também, a compatibilidade com tecnologia do VLSI (*very large-scale integration*) torna possível integrar sistemas micro-opto-mecânicos através de interligações a circuitos condicionadores de sinal no mesmo *chip*, assim pode-se melhorar e incrementar a funcionalidade dos dispositivos.

Por outro lado, tendo em vista as qualidades desejáveis num dispositivo monoliticamente integrável pela associação de técnicas, processos híbridos e procedimentos disponíveis, o objetivo principal da pesquisa descrita neste trabalho é descrever um sistema espectrofotométrico que pode ser aplicável em ampla faixa do espectro óptico com elevadas qualidades óptica, mecânica e resolução aceitável (para a operação na parte visível do espectro). O sistema proposto é baseado numa disposição não convencional de um ressonador de Fabry-Perot, implementado com um "defeito" determinado, interposto entre refletores formados por filmes dielétricos (filtros ópticos de interferência) que deverá possuir grande compatibilidade com processos de microeletrônica, isto é, pode ser perfeitamente integrável. Ademais, é objetivo deste trabalho orientar uma aplicação bastante exigente em relação ao seu desempenho: sensores para detecção e/ou avaliação de fluidos biológicos e químicos.

3.2.2 Deposição de Filmes Finos

Para a obtenção das estruturas periódicas multicamadas, que formam os filtros ópticos de interferência, utilizam-se os filmes finos. Tais filtros ópticos geralmente se apresentam em modalidades como *Line Filter* (LF), *High Pass Filter* (HPF), *Low Pass Filter* (LPF) e *Anti Reflector Coating* (AR).

Os filmes finos são aplicáveis, em geral, nas áreas de microeletrônica, dispositivos ópticos e eletro-ópticos e revestimentos de materiais. Os óxidos de titânio, por exemplo, são utilizados em revestimentos anti-refletores, filtros de interferência, sensores e capacitores em circuitos integrados.

Na microeletrônica, os filmes finos desempenham uma função essencial nos dispositivos e circuitos integrados. São utilizados nas conexões das regiões ativas de um dispositivo, na comunicação entre dispositivos, no acesso externo aos circuitos, para isolar camadas condutoras, como elementos estruturais dos dispositivos, para proteger as superfícies do ambiente externo, como fonte de dopante e como barreira para a dopagem. Os filmes finos podem ser condutores, semicondutores ou isolantes, normalmente crescidos termicamente ou depositados a partir da fase vapor.

Normalmente as propriedades de um material na forma de filme fino são muito diferentes das propriedades do mesmo material na sua forma maciça devido à influência da superfície; a relação entre a superfície e o volume é muito maior no caso do filme. Por outro lado, as propriedades dos filmes são altamente dependentes dos processos de deposição.

Os processos de formação dos filmes podem ser divididos em dois grupos básicos: crescimento dos filmes pela reação da superfície do substrato com as substâncias presentes no ambiente de processo; crescimento dos filmes por deposição sem reação com o substrato.

No primeiro caso, pode-se obter a oxidação e a nitretação térmica do silício e a obtenção de silicetos pela reação do silício com filmes metálicos depositados. O segundo caso pode ser subdividido em três subgrupos: 1) deposição química a partir da fase vapor: neste processo, denominado CVD (*Chemical Vapor Deposition*), onde os filmes são formados pela reação química de espécies convenientes na superfície do substrato. Quando o processo é utilizado para formar filmes monocristalinos ele é denominado epitaxial; 2) deposição física a partir da fase vapor: neste processo denominado PVD (*Physical Vapor Deposition*), o ambiente de processo é mantido em baixa pressão e as espécies do filme são arrancadas fisicamente de uma fonte, por efeito da temperatura, pelo efeito joule (evaporação) ou feixe

de elétrons (*e-Beam*), ou impacto de íons, átomos ou moléculas (“*Sputtering*”), que, nesta fase de vapor, se deslocam até o substrato onde se condensam na forma de um filme; e 3) deposição a partir de líquidos: neste processo a espécie, em forma líquida, é gotejada e centrifugada sobre o substrato.

Grosso modo, o mecanismo de crescimento de filmes finos ocorre por meio da deposição de átomos sobre substrato, de acordo com as fases: nucleação; crescimento e coalescência do núcleo; formação de canais e de uma camada contínua; e preenchimento das cavidades.

Os materiais são evaporados, e possibilitam normalmente a formação dos filmes pela condensação (solidificação) de átomos ou moléculas deste vapor sobre o substrato. O processo de condensação se inicia pela formação de pequenos aglomerados de material, denominados núcleos, espalhados aleatoriamente sobre a superfície do substrato. O crescimento dos núcleos é tridimensional e maior numa direção do substrato. Forças de atração eletrostáticas são as responsáveis pela fixação dos átomos à superfície. O mecanismo de fixação é denominado adsorção química quando ocorre a transferência de elétrons entre o material do substrato e a partícula depositada e adsorção física se isto não ocorrer. A energia de ligação associada à adsorção química varia de 8 eV a 10 eV e a associada à adsorção física é de aproximadamente 0.25 eV. Átomos adsorvidos migram sobre a superfície do substrato interagindo com outros átomos para formar os núcleos, esta etapa é denominada nucleação, onde ocorre a formação de núcleos uniformes de tamanhos da ordem de 25 Å. À medida que mais átomos interagem, os núcleos crescem. Quando os núcleos entram em contato uns com os outros ocorre a coalescência que resulta em estruturas maiores. Na fase de crescimento e coalescência iniciam-se as aglutinações de dois núcleos, resultando em um novo terceiro núcleo, sendo que este resulta menor que a soma das dimensões dos dois primeiros originais, caracterizando a diminuição da área total ocupada sobre o substrato. A aglutinação de diversos núcleos promove a formação de ilhas, apresentando uma estrutura cristalográfica bem definida. Estas ilhas aglutinam-se com novos núcleos, tornando-se mais ovaladas e “isoladas”, indicando o início do processo de recristalização.

As ilhas e novos núcleos formados produzem canais e cavidades, que são preenchidos pelos novos núcleos até a formação de um filme contínuo. Após o preenchimento das cavidades os filmes obtidos, de acordo com seu arranjo interatômico, deverão apresentar algumas das seguintes características: amorfos (sem estrutura cristalina); policristalino, orientados ao acaso (formados por pequenos cristais que definem diversos domínios de

diversas direções); policristalino orientado (formado por pequenos cristais com direções próximas); monocristalino (crescimento epitaxial quase perfeito).

Em sùmula, os processos PVD produzem filmes finos de qualidade satisfatória e, ainda, se diferenciam dos demais processos por não agredir o meio ambiente, pois não produzem efluentes e utilizam pouca energia e matéria prima. Neste trabalho as deposições foram preparadas por deposição física de vapor (PVD), pelos métodos resistivo e feixe de elétrons.

3.3 O sistema espectrofotométrico proposto

O FIV desenvolvido neste trabalho, juntamente com um dispositivo composto de uma matriz de fotosensores, PDA ou CCD, formam um sistema integrado microespectrofotométrico *single-chip*. Este sistema é um espectrofotômetro que pode ser apropriado para uma ampla faixa do espectro óptico entre o ultravioleta UV próximo e o infravermelho (IR) médio. O espectro incidente é filtrado e escalonadamente decomposto pelo FIV onde um determinado componente espectral é transmitido numa dada posição do filtro, coincidentemente com a posição de um *pixel* da matriz de fotodiodos integrada ao sistema. Um esquema pictórico de dispositivos FIV *chip-sized* é mostrado na Figura 3.3- 1, (a) e (b).

Figura 3.3- 1: Esquema de um dispositivo espectrofotométrico *chip-sized* – (a) *Dual In-Line Package (DIP)* (b) *Transistor Outline Package (TO-99)* .

Um PDA pode ser fabricado para uso dedicado ao sistema proposto ou, pelo fato da possibilidade de montagem em reprocessamento, o FIV pode ser montado sobre um modelo comercialmente disponível (OEM), por exemplo neste trabalho foram utilizados o LFL1401 (128 Pixels), LFL1402 (256 Pixels) da *iC-Haus*® ou TSL1401, TSL1402 da *ams AG*®.

4 Teoria óptica das películas

A teoria eletromagnética geral (equações de Maxwell) é a base da análise teórica da propagação da luz. Inicialmente é analisada uma interação de uma onda monocromática de incidência normal e, depois, oblíqua em uma fronteira simples. Estes resultados são usados para derivar equações gerais para refletância e transmitância de uma película fina depositada em um substrato. Em seguida, o método matricial é introduzido para tornar possível derivar a expressão que descreve a interação entre uma onda monocromática e um conjunto de películas finas. Além disso, também são apresentadas as noções de multicamada equivalente, admissão óptica ou admitância, camada ausente e espessura óptica quarto de onda.

A parte subsequente deste capítulo concentra-se em um ressonador plano planar de Fabry-Perot. As propriedades básicas são derivadas de um modelo idealizado (sistemas lineares com realimentação) e são analisados alguns fenômenos que resultam do ressonador não ideal. Deriva-se deste tratamento a transmissão espectral, a largura a meia altura máxima (*full width at half maximum* - *FWHM*), *Finesse* (finura - *F*), poder de resolução (*R*) e faixa espectral livre (*Free spectral Range* - *FSR*).

Este estudo leva em consideração as perdas nos espelhos e na cavidade devido à absorção ou à dispersão e ainda os efeitos da incidência não perpendicular, do tamanho finito dos espelhos e do não paralelismo entre eles. Dois tipos possíveis do espelho (dielétrico e metálico) são considerados e, finalmente, um espectrofotômetro baseado na estrutura do interferômetro Fabry-Perot é esquematizado.

4.1 Equação de onda

A equação de onda é uma equação diferencial de segunda ordem, obtida do sistema original de equações acopladas. As equações (4.1) e (4.2), são as equações de segunda ordem da onda para os campos elétricos e magnéticos respectivamente [56].

$$\mu \nabla \times \frac{\nabla}{\mu} \times \mathbf{E} + \epsilon \mu \frac{\partial^2 \mathbf{E}}{\partial t^2} = 0 \quad \text{Eq.4.1- 1}$$

$$\epsilon \nabla \times \frac{\nabla}{\epsilon} \times \mathbf{H} + \epsilon \mu \frac{\partial^2 \mathbf{H}}{\partial t^2} = 0 \quad \text{Eq.4.1- 2}$$

No domínio da frequência, na aproximação de onda plana, as equações de onda tornam-se:

$$\mu \nabla \times \frac{\nabla}{\mu} \times \mathbf{E} - \omega^2 \epsilon \mu \mathbf{E} = 0 \quad \text{Eq.4.1- 3}$$

$$\epsilon \nabla \times \frac{\nabla}{\epsilon} \times \mathbf{H} - \omega^2 \epsilon \mu \mathbf{H} = 0 \quad \text{Eq.4.1- 4}$$

Onde $\mathbf{D} = \epsilon \mathbf{E}$ e $\mathbf{B} = \mu_0 \mathbf{H}$.

Para os meios dielétricos, homogêneos e livres de carga, onde o campo elétrico satisfaz as equações $\nabla \cdot \mathbf{E} = 0$, (4.3) e (4.4) assumem a forma da equação de Helmholtz.

$$\nabla^2 \mathbf{E} + \omega^2 \epsilon \mu \mathbf{E} = 0, \quad \nabla^2 \mathbf{H} + \omega^2 \epsilon \mu \mathbf{H} = 0 \quad \text{Eq.4.1- 5}$$

Frequentemente é conveniente escrever a quantidade física $\epsilon \mu$ que aparece na equação de onda na forma alternativa:

$$\epsilon \mu = \frac{n^2}{c^2} \quad \text{Eq.4.1- 6}$$

onde $c = \frac{1}{\sqrt{\epsilon_0 \mu_0}}$ é a velocidade da luz no vácuo e $n^2 = \epsilon_r \mu_r$ é uma quantidade adimensional

conhecida como o índice de refração. Observa-se que o índice de refração representa uma construção derivada que não aparece diretamente nas equações de Maxwell. O cuidado particular é exigido com a definição (sinal) do índice de refração, nos casos onde a permissividade e a permeabilidade são quantidades complexas, pois as partes reais não são necessariamente positivas.

O sinal de n obtido da raiz quadrada na expressão para o índice de refração é determinado de acordo com a seguinte regra:

$$\Re(n) < 0 \text{ se } \Re(\epsilon) < 0 \text{ e } \Re(\mu) < 0 \quad \text{Eq.4.1- 7}$$

e

$$\Re(n) \geq 0, \text{ em outros casos} \quad \text{Eq.4.1- 8}$$

O termo “metamateriais de índice negativo” (NIMs) se refere às situações onde a primeira alternativa (Eq.4.1- 7) se aplica. O modelo padrão para a absorção no material é obtido quando a permissividade elétrica e a permeabilidade magnética dos materiais correspondentes são tomadas na sua forma complexa [72][73].

Então, materiais com funções de respostas complexas: permeabilidade $\varepsilon(\omega) = \varepsilon_{re}(\omega) + i\varepsilon_{im}(\omega)$, permissividade $\mu(\omega) = \mu_{re}(\omega) + i\mu_{im}(\omega)$ e índice de refração $n(\omega) = n_{re}(\omega) + in_{im}(\omega)$ complexos, é dado por [56].

$$n = \sqrt{|\varepsilon| |\mu|} \exp\left(\frac{i}{2} \left[\operatorname{arccot}\left(\frac{\varepsilon_{re}}{\varepsilon_{im}}\right) + \operatorname{arccot}\left(\frac{\mu_{re}}{\mu_{im}}\right) \right]\right) \quad \text{Eq.4.1- 9}$$

Onde, na presença de dispersão, as quantidades tornam-se dependentes da frequência.

4.2 Dispersão e método de matriz de transferência

Para a propagação das ondas eletromagnéticas através de estruturas planas multicamadas constituídas por lâminas constantes, homogêneas, isotrópicas e na ausência de fontes de carga, as equações de onda vetorial reduzem-se a duas equações escalares desacopladas, onde surgem dois tipos de campos ópticos [56] e [73]: as ondas elétricas transversais (TE) onde o campo elétrico é perpendicular ao plano definido pelo sentido de propagação da onda incidente e da sua projeção em relação às interfaces das camadas, e, as ondas magnéticas transversais (TM), onde o campo magnético é perpendicular a esse plano de incidência. Escolhendo as coordenadas cartesianas para descrever a propagação de ondas planas através da pilha multicamadas, onde o eixo x é paralelo aos planos das interfaces das camadas da pilha, enquanto o eixo z é perpendicular à superfície da pilha, tal que as coordenadas x e z definem o plano de incidência.

Para ondas TE o campo elétrico $\mathbf{E} = (0, \mathbf{E}_y, 0)$ é polarizado linearmente na direção y . Considerando-se a dependência temporal do campo como sendo $e^{-i\omega t}$, obtém: $\mathbf{E}(\mathbf{r}, t) = \mathbf{E}(\mathbf{r})e^{-i\omega t}$ com a frequência angular ω considerada real. Então, sob uma excitação de um harmônico externo, polarizada TE, o campo no meio é descrito pela função escalar $E_y(x, z)$ (suprimindo a subscrição y para simplificar a notação). Com esta escolha de polarização as equações de Maxwell reduzem-se à equação de Helmholtz para ondas TE:

$$\left[\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \mu(z) \frac{\partial}{\partial z} \frac{1}{\mu(z)} \frac{\partial}{\partial z} + \frac{\omega^2}{c^2} \varepsilon \mu \right] E(x, z) = 0 \quad \text{Eq.4.2- 1}$$

Analogamente, o principal componente magnético H do harmônico temporal das ondas TM com campo magnético y-polarizado, $H(x, y, z) = (0, H, 0)(x, z)e^{-i\alpha x}$, satisfaz a equação de Helmholtz

$$\left[\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \varepsilon(z) \frac{\partial}{\partial z} \frac{1}{\varepsilon(z)} \frac{\partial}{\partial z} + \frac{\omega^2}{c^2} \varepsilon \mu \right] H(x, z) = 0 \quad \text{Eq.4.2- 2}$$

A transformada de Fourier, ao longo das interfaces das camadas, separa as partes dependentes em x e z do campo principal, tal que podem ser representados pelas funções:

$$\begin{aligned} E(x, z) &= E(z) e^{\pm i k_x x} \\ H(x, z) &= H(z) e^{\pm i k_x x} \end{aligned} \quad \text{Eq.4.2- 3}$$

onde a componente x do vetor de onda k_x agora representa um parâmetro que é definido pelo ângulo de incidência (Figura 4.2- 1).

Figura 4.2- 1: Representação de uma estrutura multicamadas in-homogênea (isto é, um meio estratificado) em porções constantes onde ε , a permissividade, e μ , a permeabilidade, são z-dependentes. A estrutura é invariante ao longo dos sentidos x e y , e θ , para incidência oblíqua, é o ângulo de incidência.

Devido à invariância da permissividade e permeabilidade no sentido x as equações diferenciais (4.30) e (4.31) se tornam

$$(\mu(z) \frac{\partial}{\partial z} \frac{1}{\mu(z)} \frac{\partial}{\partial z} + \frac{\omega^2}{c^2} \varepsilon \mu - k_x^2) E(z) = 0 \quad \text{Eq.4.2- 4}$$

$$(\varepsilon(z) \frac{\partial}{\partial z} \frac{1}{\varepsilon(z)} \frac{\partial}{\partial z} + \frac{\omega^2}{c^2} \varepsilon \mu - k_x^2) H(z) = 0 \quad \text{Eq.4.2- 5}$$

Observa-se que estas equações aplicadas a pontos no interior das camadas são idênticas para as posições em z com propriedades constantes. As diferenças entre as polarizações se manifestam somente nos limites entre as diferentes camadas.

Para ondas TE, as quantidades:

$$E, \frac{1}{\mu} \frac{\partial E}{\partial z} \quad \text{Eq.4.2- 6}$$

devem ser contínuas através das interfaces, enquanto que a continuidade de

$$H, \frac{1}{\varepsilon} \frac{\partial H}{\partial z} \quad \text{Eq.4.2- 7}$$

são exigidas para ondas TM polarizadas.

Observa-se que as seguintes etapas são válidas igualmente para a permissividade e a permeabilidade complexas. As soluções analíticas da equação de Helmholtz para a estrutura multicamadas da Figura 4.2- 1, aplicada a camada do j -ésima, podem ser escritas como [74] e [77]:

$$F_j = A_j e^{ik_{jz}(z-z_{j-1})} + B_j e^{-ik_{jz}(z-z_{j-1})} \quad \text{Eq.4.2- 8}$$

onde F substitui o campo E no caso da polarização TE e o campo H para polarização TM, o k_{jz} é o componente z do vetor de onda local na camada j , definido por:

$$k_{jz}^2 = \frac{\omega^2}{c^2} \varepsilon_j \mu_j - k_x^2 \quad \text{Eq.4.2- 9}$$

Considerando uma situação em que uma onda plana $F_0(x, z) = A_0 e^{ik_x x + ik_{0z} z}$ com a uma dada amplitude A_0 incidente na estrutura multicamada (dielétrico convencional, transparente), vindo de um meio semi-infinito, homogêneo, com vetor de onda $k_{0j} = (k_x, 0, k_{0z})$. Seus componentes x e z , $k_{0x} = (\frac{n_0 \omega}{c}) \sin \theta$ e $k_{0z} = (\frac{n_0 \omega}{c}) \cos \theta$ são definidos pelo ângulo θ onde $n_0 = \sqrt{\varepsilon_0 \mu_0}$ é o índice de refração local do meio de entrada. O vetor de onda local na camada j -ésima pode ser expresso por:

$$k_{jz} = \frac{\omega}{c} n_j \sqrt{1 - \frac{n_0^2}{n_j^2} \sin^2 \theta} \quad \text{Eq.4.2- 10}$$

dentro da camada $z \in [z_{j-1}, z_j]$ com a permissividade e permeabilidade local ε_j e μ_j , respectivamente e o índice de refração definido por $n_j = \sqrt{\varepsilon_j \mu_j}$.

Fazendo $\eta_j = \mu_j$ para a polarização TE e $\eta_j = \varepsilon_j$ para a polarização TM, as condições da continuidade Eq.4.2- 6 e Eq.4.2- 7 para a interface entre as camadas j e $j + 1$ podem ser escritas como:

$$F_j(z_j) = F_{j+1}(z_j) \quad \text{e} \quad \frac{1}{\eta_j} \frac{\partial F_j}{\partial z}(z_j) = \frac{1}{\eta_{j+1}} \frac{\partial F_{j+1}}{\partial z}(z_j) \quad \text{Eq.4.2- 11}$$

Estas circunstâncias conduzem a um sistema de equações que relacionam as amplitudes das camadas contíguas através de uma matriz onde é usada a substituição

$$s_j = \frac{k_{jz}}{\eta_j}, \text{ a saber:}$$

$$\begin{pmatrix} A_j \\ B_j \end{pmatrix} = \frac{1}{2} \begin{pmatrix} \left(1 + \frac{s_{j+1}}{s_j}\right) e^{-ik_{jz}d_j} & \left(1 - \frac{s_{j+1}}{s_j}\right) e^{-ik_{jz}d_j} \\ \left(1 - \frac{s_{j+1}}{s_j}\right) e^{+ik_{jz}d_j} & \left(1 + \frac{s_{j+1}}{s_j}\right) e^{+ik_{jz}d_j} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} A_{j+1} \\ B_{j+1} \end{pmatrix} \quad \text{Eq.4.2- 12}$$

onde a propagação separada das ondas direcionais através de todas as camadas de espessura $d_j = z_j - z_{j-1}$ de acordo com a Eq.4.2- 8 já está incorporada. A multiplicação requerida destas matrizes conecta as amplitudes de cada uma das camadas da estrutura. Se a transferência da amplitude é realizada sobre toda a pilha de camadas, chega-se a uma matriz para o sistema da forma:

$$\begin{pmatrix} A_0 \\ rA_0 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} m_{11} & m_{12} \\ m_{21} & m_{22} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} tA_0 \\ 0 \end{pmatrix} \quad \text{Eq.4.2- 13}$$

Aqui r e t são os coeficientes da amplitude de reflexão e de transmissão. Assumindo que as regiões de entrada e saída envolvem meios dielétricos convencionais sem absorção, definimos a transmitância como a relação óptica da potência de entrada e saída [73] (relação das intensidades para os planos de observação paralelos à superfície das camadas).

$$T(\omega, \theta) = \frac{n_{N+1} \cos \theta_{N+1}}{n_0 \cos \theta_0} \left| \frac{1}{m_{11}} \right|^2 \quad \text{Eq.4.2- 14}$$

e a refletância como a relação entre a potência refletida e a potência incidente

$$R(\omega, \theta) = \left| \frac{m_{21}}{m_{11}} \right|^2 \quad \text{Eq.4.2- 15}$$

Aqui o ângulo θ de incidência é relacionado ao ângulo θ_{N+1} do meio de saída através da lei de Snell

$$n_j \sin \theta_j = n_{j+1} \sin \theta_{j+1} \quad \text{Eq.4.2- 16}$$

onde o n_j e θ_j são índices de refração e ângulos (formais) em camadas correspondentes. Esta expressão formal é válida até mesmo para os metamateriais de índice negativo (NIMs). De acordo com a lei de conservação da energia, quando o material apresenta perdas (permissividade e permeabilidade complexas), uma quantidade chamada absorbância pode ser definida como:

$$A = 1 - R(\omega, \theta) - T(\omega, \theta) \quad \text{Eq.4.2- 17}$$

Representando a parcela da potência óptica incidente (P_0) que é absorvida pela estrutura e transformada, por exemplo, em energia térmica no material.

4.3 Multicamadas periódicas

Considerando um arranjo multicamadas de dois materiais, A e B, com propriedades ópticas (permissividade e permeabilidade) diferentes, $\{\epsilon_A, \mu_A\}$ e $\{\epsilon_B, \mu_B\}$, como ilustrado na Figura 4.3- 1, mas considerando-se a permissividade e a permeabilidade periódicas e a invariância translacional ao longo dos eixos x e y .

$$\epsilon(z + \Lambda) = \epsilon(z) \quad \text{e} \quad \mu(z + \Lambda) = \mu(z) \quad \text{Eq. 4.3- 1}$$

sendo $\Lambda = a + b$ o período, onde a é a espessura do material A e b é a espessura do material B. Este é um modelo tradicional para as estruturas ópticas periódicas adotado neste trabalho. A estrutura possui a simetria translacional discreta em contraste com a simetria translacional contínua de meios homogêneos [74].

Figura 4.3- 1: Uma estrutura multicamadas binária e periódica em lâminas constantes, periódica com z-dependência na permissividade ϵ e na permeabilidade μ e invariante ao longo das direções x e y. A espessura das camadas A e B são a e b, respectivamente. A espessura da célula unitária Λ , representa o período da estrutura.

A propagação da onda é descrita pelas equações Eq.4.2- 4 e Eq.4.2- 5 para ambas polarizações; as soluções são periódicas de acordo com o teorema de Bloch-Floquet [75] e [76]. Assim, o campo na estrutura multicamadas periódica pode ser representado pela forma:

$$F(z + \Lambda) = e^{iK_B \Lambda} F(z) \quad \text{Eq. 4.3- 2}$$

onde o K_B é o número de onda de Bloch. A matriz de transferência (Eq.4.2- 12) conecta amplitudes nas camadas adjacentes:

$$\begin{pmatrix} A_j \\ B_j \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} T_{11}^{(j)} & T_{12}^{(j)} \\ T_{21}^{(j)} & T_{22}^{(j)} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} A_{j+1} \\ B_{j+1} \end{pmatrix} \quad \text{Eq. 4.3- 3}$$

enquanto as amplitudes locais separadas por um período são relacionadas como

$$\begin{pmatrix} A_j \\ B_j \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} T_{11}^{(j)} & T_{12}^{(j)} \\ T_{21}^{(j)} & T_{22}^{(j)} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} T_{11}^{(j+1)} & T_{12}^{(j+1)} \\ T_{21}^{(j+1)} & T_{22}^{(j+1)} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} A_{j+2} \\ B_{j+2} \end{pmatrix} \quad \text{Eq. 4.3- 4}$$

Agora, devido ao teorema de Bloch-Floquet e à Eq. 4.3- 2, obtêm-se:

$$\begin{pmatrix} A_j \\ B_j \end{pmatrix} = e^{-iK_B \Lambda} \begin{pmatrix} A_{j+2} \\ B_{j+2} \end{pmatrix} \quad \text{Eq. 4.3- 5}$$

Devido à periodicidade, as amplitudes na camada j e $(j+2)$ são as mesmas e as equações podem ser escritas com o sistema homogêneo:

$$\begin{pmatrix} T_{11} - e^{iK_B \Lambda} & T_{12} \\ T_{21} & T_{22} - e^{iK_B \Lambda} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} A_{j+2} \\ B_{j+2} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \end{pmatrix} \quad \text{Eq. 4.3- 6}$$

A solução não trivial existe somente se o determinante da matriz do sistema $\mathbf{T} = \mathbf{T}^j \mathbf{T}^{j-1}$ é nulo:

$$T_{11}T_{22} - T_{12}T_{21} - e^{iK_B\Lambda}(T_{11} + T_{22}) + e^{i2K_B\Lambda} = 0 \quad \text{Eq. 4.3- 7}$$

O determinante da matriz de transferência da célula unitária é $\det(\mathbf{T})=1$, como pode ser visto examinando a relação

$$\det \mathbf{T} = T_{11}T_{22} - T_{12}T_{21} = \det \mathbf{T}^{(j)} \det \mathbf{T}^{(j+1)} \quad \text{Eq. 4.3- 8}$$

Usando a formula (Eq.4.2- 13) da matriz de transferência, segue:

$$\det \mathbf{T}^{(j)} = \frac{s_{j+1}}{s_j} \text{ e } \det \mathbf{T}^{(j+1)} = \frac{s_{j+2}}{s_{j+1}} \quad \text{Eq. 4.3- 9}$$

que conduz a

$$\det \mathbf{T} = \frac{s_{j+1}}{s_j} \frac{s_{j+2}}{s_{j+1}} = 1 \quad \text{Eq. 4.3- 10}$$

onde a condição $s_{j+2} = s_j$ é mantida devido à periodicidade adotada. Finalmente, a Eq. 4.3- 8 simplificada [74] é:

$$\cos(K_B\Lambda) = \frac{1}{2}(T_{11} + T_{22}) = \frac{1}{2} \text{tr} \mathbf{T} \quad \text{Eq. 4.3- 11}$$

A Eq. 4.3- 11 associa os valores do vetor de onda de Bloch e da frequência do campo com a chamada relação de dispersão:

$$\omega = \omega(K_B, k_x) \quad \text{Eq. 4.3- 12}$$

Se todas as propriedades materiais (permeabilidade e permissividade) são reais, então $K_B \in \Re$. Para uma dada frequência, $\omega \in \Re$ se e somente se $|\cos(K_B\Lambda)| < 1$. Então as ondas podem se propagar no meio sem atenuação. Um intervalo das frequências onde isto é satisfeito é chamado “banda-passante” ou a “faixa de transparência”. De outro lado, pode haver uma faixa de frequências para uma dada estrutura onde $|\cos(K_B\Lambda)| > 1$, dependendo do lado direito da equação Eq. 4.3- 11. A solução da equação Eq. 4.3- 11 para $\omega \in \mathbb{R}$ é caracterizada então pelo valor complexo do vetor de onda de Bloch, com $K_B \in \mathbb{C}$. Estas faixas de frequências onde as propagações das ondas são proibidas denominam-se *bandgaps*, bandas proibidas ou *stop-bands*.

De fato, a supressão da propagação de ondas para uma faixa de frequências é uma propriedade intrínseca de todos os meios periódicos. As ondas eletromagnéticas em meios periódicos, com frequência dentro do *bandgap*, são do tipo evanescentes, isto é, são atenuadas

exponencialmente em amplitude ao se propagarem no meio. Em contraste com estas ondas evanescentes (*bandgap*), as assim chamadas ondas estendidas, se propagam devido ao fato de que a energia destas ondas está distribuída sobre toda a estrutura. Dessa forma, em analogia com a estrutura de bandas eletrônicas da física do estado sólido, os chamados cristais fotônicos seguem por esse mesmo caminho [74][75][76][77].

A Eq. 4.3- 11 pode ser aplicada à análise de uma célula unitária mais complexa (isto é, com mais de duas camadas na pilha unitária do arranjo arbitrário) considerando o traço da matriz de transferência correspondente [74]. A repetição periódica da pilha unitária causa a estrutura de banda proibida (*bandgap*). As vezes este método, chamado método das super-redes, é usado para a análise das estruturas (não periódicas) finitas onde é feita a suposição de que a periodização artificial não muda a resposta óptica substancialmente [10].

Uma outra aproximação para mostrar a origem física dos fenômenos da banda proibida (*bandgap*) encontra-se na descrição da múltipla dispersão da propagação da onda que atinge uma condição em que as ondas interferem construtiva ou destrutivamente de maneira a suportar ou rejeitar a propagação da onda para determinadas frequências. Embora este ponto de vista seja intuitivamente muito atraente, ele não é, em geral, fácil de ser tratado matematicamente [10].

4.4 Multicamadas periódicas com defeitos

Olhando para os meios periódicos do ponto de vista da simetria, o *bandgap* pode ser visto como resultado da simetria translacional discreta dos meios periódicos [10]. Ao que se revela, as frequências das ondas de propagação dentro do *bandgap* estão suprimidas e todas as ondas são do tipo evanescente. Entretanto, a quebra da simetria dos meios periódicos pode permitir a propagação de algumas frequências que pertencem à faixa do *bandgap*. Uma maneira comum de quebrar a simetria translacional é mudar localmente a espessura ou as propriedades dos materiais numa camada específica [10]. As partes periódicas emergentes do cristal fotônico que encerra o local do defeito atuam como espelhos seletivos da frequência para um ressonador do tipo de Fabry-Perot, formado pela camada defeituosa.

Com um ajuste apropriado dos parâmetros do defeito, as modalidades assim chamadas de defeito podem ser suportadas pela estrutura. Estes são estados localizados com concentração de energia na proximidade do defeito em contraste com os estados estendidos da

banda passante na estrutura periódica. Elas possuem um vetor de onda real, vetor de Bloch, na faixa de frequência do *bandgap* da estrutura periódica subjacente [10].

Nestas ultimas secções foram apresentadas as equações que descrevem a interação da onda monocromática com uma pilha multicamadas (*multilayer stack*) em um meio dielétrico, linear e homogêneo. Mencionou-se também que defeitos podem levar a ressonâncias que permite a transmissão de uma frequência específica pertencente ao *bandgap*. O interesse agora é a caracterização e a utilização destas ressonâncias dos defeitos que aparecem em estruturas finitas. Esta montagem de filmes finos pode ser usada como elemento selecionador de comprimentos de onda. A deposição de filmes finos tipicamente conta com a diferença nos índices de refração de dois ou mais materiais usados para produzir efeitos de interferência na estrutura multicamadas. A completa teoria básica da óptica dos filmes finos está presente na literatura [75], [77] até [81].

4.5 Propriedades ópticas dos filmes finos

A representação de uma estrutura formada por deposição de filmes finos de material dielétricos é mostrada na Figura 4.5- 1. A luz incidente vinda do meio incidente sofre múltiplas reflexões e refrações entre as duas interfaces que separam os três meios (meio incidente n_0 , filme n_1 , meio de saída n_2). Se a amplitude da onda incidente é E_0 , a amplitude total da onda refletida é dada pela soma de todas as contribuições dos raios refletidos dentro do meio incidente [11], [56] e [72]:

Figura 4.5- 1: Esquema da propagação de ondas eletromagnéticas através de filmes finos depositados sobre um substrato. Cada amplitude é definida pelos coeficientes de Fresnel e pelo retardamento de fase.

$$\begin{aligned}
 E_{ref} &= r_{01}E_0 + r_{12}t_{01}t_{10}E_0e^{2j\delta} + r_{10}(r_{12})^2t_{01}t_{10}E_0e^{4j\delta} + (r_{10})^2(r_{12})^3t_{01}t_{10}E_0e^{6j\delta} + \dots = \\
 &= r_{01}E_0 + r_{12}t_{01}t_{10}E_0e^{2j\delta}[1 + r_{10}r_{12}e^{2j\delta} + (r_{10}r_{12})^2e^{4j\delta} + \dots]
 \end{aligned}$$

Eq.4.5- 1

A razão da amplitude da luz refletida pela incidente resulta em [56]:

$$\rho = \frac{E_{ref}}{E_0} = \left(r_{01} + \frac{r_{12}t_{01}t_{10}e^{2j\delta}}{1 - (r_{10}r_{12}e^{2j\delta})} \right) = \frac{r_{01} + r_{12}e^{2j\delta}}{1 + r_{10}r_{12}e^{2j\delta}} \quad \text{Eq.4.5- 2}$$

onde

$$\delta = \frac{2\pi}{\lambda_0} n_1 d \cos \phi_1 \quad \text{Eq.4.5- 3}$$

é a mudança de fase do feixe de luz ao atravessar a película (λ_0 é o comprimento de onda da luz no vácuo). Sendo que n_1 é o índice de refração no filme, d a espessura do filme e ϕ_1 ângulo do raio transmitido, conforme o esquema da Figura 4.5- 1. Da mesma forma que a amplitude refletida foi calculada, calcula-se a amplitude transmitida [61]:

$$\begin{aligned}
 E_{trd} &= t_{01}t_{10}E_0e^{j\delta} + r_{10}r_{12}t_{01}t_{12}E_0e^{2j\delta} + (r_{10}r_{12})^2t_{01}t_{12}E_0e^{4j\delta} + (r_{10}r_{12})^3t_{01}t_{12}E_0e^{6j\delta}e^{j\delta} + \dots = \\
 &= r_{01}E_0 + r_{12}t_{01}t_{10}E_0e^{2j\delta}[1 + r_{10}r_{12}e^{2j\delta} + (r_{10}r_{12})^2e^{2j\delta} + \dots]
 \end{aligned} \quad \text{Eq.4.5- 4}$$

A razão da amplitude da luz transmitida pela incidente resulta em:

$$\tau = \frac{E_{trd}}{E_0} = \frac{t_{01}t_{12}e^{j\delta}}{1 + (r_{10}r_{12}e^{2j\delta})} \quad \text{Eq.4.5- 5}$$

A refletividade e a transmissividade são definidas por:

$$R = \rho\rho^* = \rho^2 \quad \text{Eq.4.5- 6}$$

e, como $n_0 = n_2$, obtêm-se:

$$T = (n_2 / n_0) \tau \tau^* = \tau^2 \quad \text{Eq.4.5- 7}$$

Assumindo que todos os materiais são ideais, ou seja, homogêneo e não absorvente, tem-se:

$$R = \frac{r_{01}^2 + r_{12}^2 + 2r_{01}r_{12} \cos 2\delta}{1 + r_{01}^2 r_{12}^2 + 2r_{01}r_{12} \cos 2\delta} \quad \text{Eq.4.5- 8}$$

e

$$T = \frac{t_{01}^2 \cdot t_{12}^2}{1 + r_{01}^2 r_{12}^2 + 2r_{01} r_{12} \cos 2\delta} \frac{n_2 \cos \phi_2}{n_0 \cos \phi_0} \quad \text{Eq.4.5- 9}$$

A espessura do filme é d e, quando δ é substituído por $\delta + \pi$, isto é d é substituído por $d + \Delta d$:

$$\Delta d = \frac{\lambda_0}{2n_1 \cos \phi_1} \quad \text{Eq.4.5- 10}$$

A refletividade e a transmissividade das películas dielétricas que diferem na espessura por um múltiplo inteiro de $\lambda_0 / (2n_1 \cos \phi_1)$ são as mesmas. Para a espessura óptica D do filme (isto é $D = n_1 d$), o coeficiente de reflexão é máximo ou mínimo para a condição:

$$\frac{dR}{dD} = 0 \quad \text{Eq.4.5- 11}$$

A condição é satisfeita quando $\sin 2\delta = 0$, isto é quando

$$D = \frac{p\lambda_0}{4 \cdot \cos \phi_1}, \text{ com } (p = 0, 1, 2, \dots) \quad \text{Eq.4.5- 12}$$

Distinguimos as duas soluções, onde p é ímpar e onde p é par:

1) se p é ímpar, então $\cos 2\delta = -1$ e a Eq.4.5- 8 resulta:

$$R = \left(\frac{r_{01} - r_{12}}{1 - (r_{01} r_{12})} \right)^2 \quad \text{Eq.4.5- 13}$$

Para a incidência normal:

$$r_{01} = \left(\frac{n_0 - n_1}{n_0 + n_1} \right) \quad \text{Eq.4.5- 14}$$

$$r_{12} = \left(\frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2} \right) \quad \text{Eq.4.5- 15}$$

Que resulta em,

$$R = \left(\frac{n_0 n_2 - n_1^2}{n_0 n_2 + n_1^2} \right)^2 \quad \text{Eq.4.5- 16}$$

2) Se p é par, então $\cos 2\delta = 1$ e resulta:

$$R = \left(\frac{r_{01} + r_{12}}{1 + (r_{01} r_{12})} \right)^2 \quad \text{Eq.4.5- 17}$$

Em particular, para a incidência normal:

Eq.4.5- 18

$$R = \left(\frac{n_0 - n_2}{n_0 + n_2} \right)^2$$

Desta forma a refletividade é independente de n_1 . Na incidência oblíqua, n_i precisaria ser substituído por $n_i \cos \phi_i$ ($i=1,2,3,\dots$) em todas as fórmulas. Um filme com a espessura óptica $p\lambda_0 / (2\cos \phi_1)$ com $p=1,2,3,\dots$ não tem nenhuma influência na intensidade da luz refletida (ou transmitida). Tal camada é referida como “ausente”[81].

Para determinar a natureza dos extremantes (se é ponto de máximo ou de mínimo), partindo de $D = p\lambda_0 / (4\cos \phi_1)$ com $p = 1,2,3,\dots$, deve-se estudar as condições:

$$\left(\frac{d^2 R}{dD^2} \right) > 0 \quad \text{Eq.4.5- 19}$$

$$\left(\frac{d^2 R}{dD^2} \right) < 0 \quad \text{Eq.4.5- 20}$$

isto significa :

$$\left(\frac{d^2 R}{dD^2} \right) > 0, \quad (-1)^p r_{01} r_{12} [1 + r_{01}^2 r_{12}^2 - r_{01}^2 - r_{12}^2] < 0 \text{ para a primeira condição e}$$

$$\left(\frac{d^2 R}{dD^2} \right) < 0, \quad (-1)^p r_{01} r_{12} [1 + r_{01}^2 r_{12}^2 - r_{01}^2 - r_{12}^2] > 0 \text{ para a segunda condição.}$$

Para a incidência normal encontra-se:

- Máximo, se $(-1)^p (n_0 - n_1)(n_1 - n_2) > 0$
- Mínimo, se $(-1)^p (n_0 - n_1)(n_1 - n_2) < 0$

Considerando o primeiro meio como sendo o ar ($n_0=1$), concluí-se que se a refletividade de uma película que tem uma espessura óptica com valores $\lambda_0/4$, $3\lambda_0/4$, $5\lambda_0/4$, ... etc., é um máximo ou um mínimo dependendo se o índice de refração da película é maior ou menor do que o índice de refração do meio substrato. Para uma película cuja espessura óptica tenha valores $\lambda_0/2$, λ_0 , $3\lambda_0/2$, etc., vale o oposto.

4.6 Propriedades ópticas de pilhas multicamadas.

Esta secção apresenta as técnicas gerais para o cálculo da transmitância e da refletância de uma pilha multicamadas. Aqui é assumido que a estrutura é composta de uma pilha ideal de camadas homogêneas, lisas e paralelas [81] e [82].

A componente tangencial da onda eletromagnética do campo elétrico **E** e campo magnético **H** precisam ser contínuos através de cada interface da estrutura multicamadas de forma a satisfazer as equações de Maxwell. A refletância (R) da onda que se propaga por um meio (índice de refração n_1) para outro meio (índice de refração n_2) é definido como a razão da potência refletida pela incidente, de acordo com a equação Eq.4.5- 18, para incidência normal:

$$R = \left| \frac{n_1 - n_2}{n_1 + n_2} \right|^2 \quad \text{Eq.4.6- 1}$$

A transmitância é $1-R$. Reflexões de todas as ondas incidentes ocorrem na interface entre dois meios.

Uma pilha é composta de q camadas conforme a Figura 4.6- 1, cada camada é definida por sua matriz característica. A técnica da multiplicação de matrizes (método das matrizes) é usada para calcular as características ópticas da pilha de filmes finos. A solução da Eq.4.6- 3, página 78, é válida somente para o caso da incidência normal.

Figura 4.6- 1: Esquema da estrutura de pilha representada por uma montagem de camadas.

Contudo, cada camada possui o índice de refração N , que pode ser complexo, $N = n - ki$. O coeficiente de extinção, k , representa a atenuação em meios com perdas. A

admitância óptica da camada é $y_j = y_{fs} N_j$, onde y_{fs} é a admitância óptica no vácuo. Quando uma onda plana com comprimento de onda λ_0 , incidência normal, se propaga dentro da cavidade, a matriz característica M_j da camada óticamente homogênea, com índice de refração N_j e espessura z_j , é [78]:

$$M_j = \begin{bmatrix} \cos \alpha & \frac{i}{y_j} \sin \alpha \\ i y_j \sin \alpha & \cos \alpha \end{bmatrix} \quad \text{Eq.4.6- 2}$$

sendo $k_0 = \frac{2\pi}{\lambda_0}$ e $\alpha = (k_0 N_j z_j)$

A matriz característica final da pilha de filmes é:

$$M = M_q \cdot M_{q-1} \cdot \dots \cdot M_2 \cdot M_1 \quad \text{Eq.4.6- 3}$$

A refletância e transmitância total da estrutura podem ser calculadas por:

$$R = \left| \frac{y_{in} B - C}{y_{in} B + C} \right|^2 \quad \text{Eq.4.6- 4}$$

$$T = \frac{4 y_{in} \Re(y_{out})}{|y_{in} B + C|^2} \quad \text{Eq.4.6- 5}$$

Onde

$$\begin{bmatrix} B \\ C \end{bmatrix} = M \begin{bmatrix} 1 \\ y_{out} \end{bmatrix} \quad \text{Eq.4.6- 6}$$

y_{in} , y_{out} são as admitâncias do meios para o qual a luz entra ou sai, respectivamente. A absorbância pode ser calculada para:

$$A = 1 - (R + T) \quad \text{Eq.4.6- 7}$$

4.6.1 Espessura óptica: quarto de onda e meia onda

É mais conveniente e desejável, como visto em 4.5, calcular a admitância de pilhas de quarto de onda e de meia onda, então, o projeto frequentemente é especificado em termos de quarto de ondas com respeito ao comprimento de onda λ_0 .

Se a espessura óptica é um número inteiro de quartos de onda (para um comprimento de onda λ_0 de referencia para o qual a deposição foi projetada), a matriz característica do filme fino é descrito pela Eq.4.6- 2, de onde se deriva [81]:

$$M' = \pm \begin{bmatrix} 0 & \frac{i}{y_1} \\ iy_1 & 0 \end{bmatrix} \quad \text{Eq.4.6.1- 1}$$

onde $\alpha = m \cdot (\pi/4)$ e m é um inteiro ímpar.

Para m ímpar, $\sin\alpha = \pm 1$ e $\cos\alpha = 0$. Esta matriz é de fácil manuseio. Tais estruturas QWOT *quarter-wave optical thickness* (espessura óptica quarto de onda) são geralmente representadas por letras maiúsculas H, M, L, assim se referindo, H a materiais que possuem alto índice de refração, M a materiais intermediários e L a materiais de baixos índices de refração. Para uma espessura óptica de um número inteiro de meia ondas, isto é, com m sendo inteiro e par ($\sin\alpha = 0$ e $\cos\alpha = \pm 1$), resulta a matriz unitária, a qual não tem efeito na transmitância e refletância (camada ausente) [10], [81] e [82]:

$$M'' = \pm \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} \quad \text{Eq.4.6.1- 2}$$

O projeto de estruturas de camadas QWOT e camadas HWOT *half-wave optical thickness* (espessura óptica de meia onda) é refinado por meio de simulações computacionais que levam em conta a dependência do comprimento de onda correspondente à frequência, conforme a Eq.4.9 da página 65, e das propriedades ópticas de um determinado material.

4.6.2 Fronteiras não ideais

Quando um fluxo radiante incide numa superfície (interface não ideal) geralmente ocorrem: transmissão, absorção e reflexão da radiação. A Figura 4.6.2- 1 mostra um caso ideal onde os componentes transmitidos e refletidos ou são especular ou são perfeitamente difuso. Até agora, somente a transmissão ou reflexão especular foram assumidos. Porém a transmissão e reflexão em uma superfície real, na prática, podem ocorrer: reflexão com componente difusa, reflexão com componente especular, reflexão com componente retro-refletiva, transmissão regular e/ou transmissão difusa.

Figura 4.6.2- 1: Caso ideal, componentes transmitido e refletido são ou especular ou perfeitamente difusa: a) efeitos macroscópicos, b) efeitos microscópicos [82].

5 Ressonador de Fabry-Perot

Um ressonador óptico confina certos comprimentos de onda da luz e opera como um sistema óptico de transmissão com realimentação: a luz reflete repetidamente no interior do sistema sem escapar. Um ressonador simples (Figura 5- 1) que é composto por dois refletores paralelos entre os quais a luz é refletida e transmitida com pequenas perdas é conhecido como ressonador de Fabry-Perot. A seletividade do ressonador óptico de Fabry-Perot permite que seja usado como elemento selecionador de comprimentos de onda em espectrofotômetros. Pesquisas realizadas têm demonstrado a viabilidade da microfabricação em estrutura vertical com somente um caminho óptico e com razoável performance [5], [10], [11], [67] e [83]. Estes são fortes argumentos para que esta configuração de ressonador seja usada como elemento selecionador de comprimentos de onda no desenvolvimento de micro-espectrofotômetros para faixas do espectro no visível e infravermelho próximo.

A fabricação de microespectrofotômetros integrados em processos de microeletrônica é limitada por restrições dos processos nas dimensões vertical e horizontal, e são restritas a estruturas planares. Então, a configuração de placas planas do ressonador de Fabry-Perot é mais adaptada a certas tecnologias do que as configurações de placas esféricas [79].

Figura 5- 1: Ressonador de Fabry-Perot com espelhos planos.

No ressonador ideal de Fabry-Perot os dois espelhos são assumidos perfeitamente paralelos e sem perdas. Também, é assumido que não há absorção no meio ressonador.

5.1.1 Modos Ressonador

Uma onda monocromática de frequência $\nu = \omega/2\pi$ tem a função de onda:

$$u(r,t) = \Re_e \{ U(r) \exp(j2\pi\nu t) \} \quad \text{Eq.5.1.1- 1}$$

a qual representa o componente transversal do campo elétrico. A amplitude complexa $U(r)$ satisfaz a Eq.5.1.1- 1 de Helmholtz, onde $k = 2\pi\nu/v_m$ é o número de onda e v_m é a velocidade da luz no meio. O modo do ressonador são as soluções básicas da equação de Helmholtz. Para o ressonador de espelho plano, a componente transversal do campo elétrico se anula na superfície do espelho, então $U(r) = 0$ no plano $z=0$ e $z=d$. O resultado é uma onda estacionária [56]:

$$U(r) = A \sin kz \quad \text{Eq.5.1.1- 2}$$

onde A é uma constante que satisfaz a equação de Helmholtz que se anula em $z=0$ e $z=d$ se k satisfaz a condição $kd = q\pi$, onde q é um inteiro.

Esta restrição sobre k resulta valores de $k_q = q\pi/d$, de forma que o modo tem amplitude complexa $U(r) = A_q \sin k_q z$, onde A_q são constantes. Valores negativos de q não constituem valores de modos independentes, visto que a função “seno” é ímpar. Então, os modos do ressonador são ondas estacionárias $A_q \sin k_q z$; assim os positivos inteiros $q = 1, 2, 3, \dots$ são chamados números de modos (Figura 5.1.1- 1)

Figura 5.1.1- 1: Campo de distribuição dos modos de um interferômetro espelho-planar.

Para uma onda arbitrária que entra em um ressonador, pode-se representar a superposição dos modos, $U(r) = \sum_q A_q \sin k_q z$. A isso segue que a frequência $\nu = q\nu_m/2d$ é restrita a valores discretos:

$$\nu_q = q\nu_m/2d$$

Eq.5.1.1- 3

com $q = 1, 2, 3, \dots$

Estas são as frequências de ressonância do ressonador. Os comprimentos de onda de ressonância são, $\lambda_q 2d/q$ enquanto que $\nu_m = c_0/n$ é a velocidade da luz no meio cavidade. A análise para cobrir diferentes modos do espectro pode ser complicada. A redução do número de modos corresponde ao decrescimento do caminho óptico.

O deslocamento de fase dado por uma única viagem de ida e volta de propagação (2d) é:

$$\varphi = k2d = q2\pi$$

Eq.5.1.1- 4

com $q = 1, 2, 3, \dots$

Isto leva para a relação $kd = q\pi$, onde k é o número de onda, como foi definido antes $k = 2\pi/\lambda$. O ressonador trabalha como um sistema de realimentação: a saída do sistema está em fase com a entrada (Figura 5.1.1- 2) [10].

Figura 5.1.1- 2: Diagrama de Blocos representando um sistema realimentado.

A onda plana de amplitude complexa U_0 é refletida no espelho 2 e se propaga para trás para o espelho 1 quando reflete novamente (a amplitude se torna U_1).

A onda monocromática original U_0 no ponto P se propaga para a direita ao longo do eixo do ressonador (Figura 5.1.1- 3).

Figura 5.1.1- 3: Uma onda reflete múltiplas vezes nos espelhos do ressonador, resultando num deslocamento de fase em cada reflexão.

A onda incidente U_0 que transpassa M_1 é refletida no espelho M_2 e se propaga para o espelho M_1 , onde é novamente refletida. A amplitude em P se torna U_1 e U_1 cria U_2 em infinitas ondas parciais $U_0, U_1, U_2, \dots$. Estas magnitudes devem ser iguais, pois não há perdas

associadas à reflexão e transmissão. Então a onda total U é a soma dos infinitos números de fasores de igual magnitude:

$$U = U_0 + U_1 + U_2 + \dots \quad \text{Eq.5.1.1- 5}$$

5.2 Ressonador Fabry-Perot planar não ideal

Na secção anterior o ressonador planar de Fabry-Perot foi tratado como um sistema óptico de realimentação, que pode ser apropriado usar o método das matrizes para procurar a função espectral da transmitância e refletância. *Softwares* profissionais são disponíveis comercialmente para desenhar e otimizar pilhas de filmes finos baseados no método das matrizes (ex. TFCalc, Design, OpenFilters).

Um ressonador não ideal de Fabry-Perot, composto por dois espelhos semitransparentes com perdas, separado por uma distancia d , será agora abordado. O fator de atenuação de amplitude, r , será introduzido (para as reflexões e absorção no meio ressonador). Um tratamento de maior rigor do ressonador de Fabry-Perot não ideal pode ser encontrado em [10], [60] e [79]. Inicialmente é oportuno o estudo da resposta espectral e da transmitância do ressonador.

5.2.1 Resposta Espectral

A onda plana de amplitude complexa U_i e intensidade I_i que entra no ressonador de espelho planar e é submetida a múltiplas reflexões e transmissões, conforme ilustra a Figura 5.2.1- 1.

No ressonador com perdas, a excursão da onda U_0 entre os dois espelhos resulta na soma infinita dos fasores. A diferença de fase depois da reflexão em ambos os espelhos é:

$$\varphi = k2d = \frac{4\pi vd}{v_m} \quad \text{Eq.5.2.1- 1}$$

Devido à não perfeição da reflexão nos espelhos e absorções no meio, uma reflexão efetiva é representada por R . Isto implica no fator de atenuação da intensidade.

Considerando que $U_1 = \zeta U_0$, com $\zeta = R e^{-j\varphi}$ e que o fasor U_2 está relacionado a U_1 pelo mesmo fator complexo ζ . Considerando todos os consecutivos fasores, resulta:

Figura 5.2.1- 1: Transmissão de onda plana através de um espelho planar Fabry-Perot.

$$U = U_0 + U_1 + U_2 + \dots = U_0 + \zeta U_0 + \zeta^2 U_0 + \dots \quad \text{Eq.5.2.1- 2}$$

$$U = U_0 \cdot (1 + \zeta + \zeta^2 + \dots) = \frac{U_0}{1 - \zeta} \quad \text{Eq.5.2.1- 3}$$

A intensidade no ressonador pode ser expressa como:

$$I = |U|^2 = \frac{U_0^2}{|1 - R e^{-j\varphi}|^2} = \frac{I_0}{(1 + R^2 - 2R \cos \varphi)} = \frac{I_0}{(1 - R)^2 + 4R \sin^2(\frac{\varphi}{2})} \quad \text{Eq.5.2.1- 4}$$

Esta é chamada equação de Airy, que geralmente é reescrita como [11]:

$$I = \frac{I_{\text{máx}}}{1 + \left(2 \frac{F}{\pi}\right)^2 \cdot \sin^2\left(\frac{\varphi}{2}\right)} \quad \text{Eq.5.2.1- 5}$$

Onde $I_{\text{máx}} = I_0 / (1 - R)^2$, sendo que $I_0 = U_0^2$ é a intensidade da onda inicial. O parâmetro F é conhecido como “*Finesse*” do ressonador [11]:

$$F = \frac{\pi \cdot R^{1/2}}{1 - R} \quad \text{Eq.5.2.1- 6}$$

Pela Eq.5.2.1- 5 segue-se que a resposta espectral do ressonador de Fabry-Perot torna-se:

$$I = \frac{I_{\max}}{1 + \left(2 \frac{F}{\pi}\right)^2 \cdot \sin^2\left(\frac{\pi v}{v_f}\right)} \quad \text{Eq.5.2.1- 7}$$

onde $v_f = v_m / 2d$ representa a diferença constante entre frequências adjacentes de ressonância; $\omega = 2\pi v$, $v_q = qv_m / 2d$, $q = 1, 2, \dots$, são as frequências de ressonância do ressonador. Similarmente a Eq.5.2.1- 8, obtêm-se em termos de comprimento de onda:

$$q\lambda = 2d \quad \text{Eq.5.2.1- 8}$$

Se a amplitude complexa e a intensidade da onda transmitida são U_t e I_t , respectivamente, e R_1 , R_2 são as amplitudes das refletâncias das superfícies internas dos espelhos 1 e 2, onde T_1 e T_2 são as amplitudes da transmitância dos espelhos, é possível definir a intensidade da transmitida $T(v)$ do ressonador de Fabry-Perot em função da frequência v da onda, a saber [11]:

$$T(v) = \frac{T_{\max}}{1 + \left(2 \frac{F}{\pi}\right)^2 \cdot \sin^2\left(\pi \frac{v}{v_f}\right)} \quad \text{Eq.5.2.1- 9}$$

Onde $T_{\max} = T^2 / (1 - R)^2$, v_f o “espaço” entre as frequências de ressonância adjacentes (faixa espectral livre, FSR), $T = T_1 \cdot T_2$, $R = R_1 \cdot R_2$:

$$v_f = FSR = v_m / 2d \quad \text{Eq.5.2.1- 10}$$

Os principais parâmetros que caracterizam a resposta espectral do ressonador Fabry-Perot são: *Finesse* (F), *full width at half maximum* (FWHM) ou largura da banda a meia altura, faixa espacial livre (FSR) e poder de resolução (R).

O estudo do ressonador de Fabry-Perot multicamadas de filmes finos, frequentemente usa o modelo exposto, Funções de Airy para transmissão [11], para calcular a resposta óptica da cavidade entre refletores dielétricos multicamadas. Este modelo simplificado usa uma refletância equivalente de um *multilayer* e possibilita a representação da cavidade entre refletores multicamadas por um ressonador com dois espelhos muito finos e ignora as interações de fase de cada reflexão. Para ressonadores práticos, o método da matriz (usando a matriz característica de cada camada na cavidade e calculando a resposta óptica da pilha de

multicamadas) é geralmente usado como base dos algoritmos de softwares e ferramentas de CAD disponíveis [81].

5.2.1.1 FWHM e *Finesse*

A intensidade da onda transmitida corresponde a “picos” estreitos que são formados na transmissão. A “finura” ou “agudeza” dos picos, que aumenta com o aumento da refletância, já definida como a *Finesse* (Eq.5.2.1- 6), pode ser expressa pela razão da separação de picos sucessivos ν_F (Eq.5.2.1- 10) pela largura do pico a meia altura (FWHM). O não paralelismo dos espelhos e outros defeitos afetam estas características do espectrofotômetro.

5.2.1.2 Faixa espectral livre

O espaço entre frequências de ressonâncias adjacentes é a FSR *Free Spectral Range* (faixa espectral livre) (Eq.5.2.1- 1 e Figura 5.2.1.3- 1). Geralmente, o FSR é a faixa de comprimentos de onda com que espectrofotômetro pode medir sem ambiguidade. Para interferômetros de Fabry-Perot com espaçamento d entre espelhos, os picos de transmissão são separados por comprimentos de onda $\Delta\lambda$, a FSR é definida como:

$$FSR = \frac{\lambda^2}{2d} \quad \text{Eq.5.2.1.2- 1}$$

Em um Fabry-Perot ajustável a faixa espectral livre (FSR) e a largura de banda (FWHM) podem ser controladas independentemente. O *gap* da cavidade ajusta a largura espectral livre Eq.5.2.1- 2, e a refletividade dos espelhos controla a largura de banda (*Finesse*) Eq.5.2.1- 6.

5.2.1.3 Poder de Resolução

O “poder de resolução” ou “resolução”, R (critério Rayleigh), que foi apresentado no capítulo 3.2, não deve ser aplicado diretamente ao ressonador de Fabry-Perot (as franjas do interferômetro são diferentes). O poder de resolução do interferômetro de Fabry-Perot é obtido por [11]:

$$R_{fp} = \frac{\lambda}{FWHM} = qF = \frac{q\pi\sqrt{R}}{(1-R)} \quad \text{Eq.5.2.1.3- 1}$$

Sendo F a *Finesse*, q a ordem do modo, R a refletividade dos espelhos e λ o comprimento de onda. A resolução é o produto da *Finesse* pelo número da ordem. Uma baixa *Finesse* não resulta necessariamente em uma baixa resolução média; mas isto implica que para se conseguir alta resolução, o espectrofotômetro precisa ser usado em ordens altas.

Então, o poder de resolução depende principalmente do espaço entre espelhos e de sua refletividade. Maiores espaçamentos e/ou alta refletividade resultam em alto poder de resolução.

Figura 5.2.1.3- 1: Picos de transmissão são igualmente espaçados como função da frequência.

5.2.2 Perdas associadas ao espelho e ao meio ressonador

A parte mais importante do dispositivo Fabry-Perot (FP) são os espelhos. Para implementar um dispositivo FP são utilizados espelhos de alta refletância com coberturas, tanto de dielétricas quanto metálicas. Os espelhos dielétricos, quando corretamente projetados e fabricados, têm elevado desempenho em suas características (alta refletância e baixas perdas por absorção). São formados pela deposição de uma sequência de dois (ou mais) filmes dielétricos diferentes e com espessuras bem controladas, formando uma pilha de muitas camadas; e a performance do filtro é altamente influenciada pela qualidade da deposição dos filmes.

Os filmes de cobertura metálica possuem perdas mais altas que os espelhos de cobertura dielétrica; contudo, eles podem ser mais atrativos em certas aplicações devido à simplicidade de sua fabricação (somente uma camada a ser depositada). Outra vantagem dos espelhos metálicos é que geralmente possuem bom desempenho numa larga faixa espectral. Alumínio, ouro e prata são os metais mais comuns usados para coberturas reflexivas. A Figura 5.2.2- 1 mostra a refletância para a região que se estende do ultravioleta profundo ao infravermelho próximo no espectro [86].

Figura 5.2.2- 1: Refletância da prata, ouro e alumínio em função do comprimento de onda da radiação [86].

Filtros Fabry-Perot usando espelhos metálicos não são providos de alta *Finesse* e alta transmitância simultaneamente, devido à absorção no metal.

A absorção em filmes metálicos é também devida a alta mobilidade dos elétrons. Então, a ação do campo elétrico paralelo à superfície devido à onda incidente é anulada. Esta condição de contorno causa a reflexão da luz. Um filme muito fino é quase transparente a luz quando não há elétrons suficientes para interagir com a luz incidente. Então, a espessura dos filmes metálicos é tipicamente selecionada entre dois extremos: entre uma faixa de espessura do metal onde haja elétrons suficientes para interagir com uma onda incidente e outra em que tais elétrons não possam se mover livremente. Assim o movimento dos elétrons absorvem a energia da onda e a absorção ocorre [64], [65] e [86].

Uma outra fonte de perdas nos espelhos é a imperfeição nas reflexões, seja devido a rugosidades nas superfícies, perdas por transmissão ou pelo tamanho finito do espelho [86], [87] e [88].

Absorções e espalhamento no meio entre os espelhos são perdas devido ao meio da cavidade. Se definimos o coeficiente de absorção do meio α_m , o fator de atenuação numa viagem de ida e volta da onda é $e^{-2\alpha_m d}$ [11].

A intensidade da onda nos espelhos de refletâncias R_1 e R_2 decresce por um fator $R_1 R_2$ no curso de duas reflexões associadas a uma simples viagem de ida e volta. O fator de atenuação da intensidade total é [87]:

$$R^2 = R_1 R_2 e^{-2\alpha_m d} \quad \text{Eq.5.2.2- 1}$$

se definimos o coeficiente de perda efetiva total, α_r , torna-se:

$$\alpha_r = \alpha_m + \frac{1}{2d} \ln \frac{1}{R_1 R_2} \quad \text{Eq.5.2.2- 2}$$

5.2.3 Uso de metais na faixa visível do espectro

O alumínio pode ser o material mais apropriado em termos de compatibilidade com processos de fabricação de microeletrônica, mas tem maiores perdas por absorção que a prata e o ouro no visível e infravermelho (Infra-Red - IR) próximo, conforme a Figura 5.2.2- 1. Para a região visível do espectro, a prata é a melhor escolha, mas exibe pior estabilidade a longo termo (tendência a oxidar) [86].

O ouro é mais resistente à corrosão que a prata e pode ser a melhor escolha quando se necessita melhor performance espectral. Uma vantagem da prata, se puder ser aplicada em sistemas selados de forma a evitar as manchas, é a característica natural de filtro banda passante, cortando a banda do UV.

O tratamento da absorção no filme fino é feito com detalhes em [73].

5.2.4 Ângulo de incidência e não paralelismo.

Raios que incidem ligeiramente inclinados escapam mais rapidamente do ressonador do que os raios perpendiculares. Isto implica em baixa resolução. Múltiplas reflexões ocorrem entre os espelhos do ressonador plano planar. A informação espectral pode ser derivada variando-se um dos três termos do lado direito da equação:

$$q\lambda = 2nd \cos \alpha \quad \text{Eq.5.2.3- 1}$$

sendo q um inteiro, α é ângulo de incidência da luz, n o índice de refração do meio da cavidade e d a distancia entre espelhos (para um *gap* de ar entre os espelhos a espessura óptica é igual a d e $n=1$). Se $\cos \alpha = \{1/2, 1/3, 1/4, \dots\}$, incremento de α , $q=1$, $n=1$ o modo de trabalho é alterado, onde a resolução e transmitância são deteriorados.

Se os espelhos não são paralelos, os raios de luz também escapam do ressonador. Em princípio a medida espectral é possível, contudo, ao custo de forte redução da *Finesse* e da resolução.

5.2.5 Camada dielétrica sucessivas.

Sendo H representando uma camada com alto índice de refração, n_H , L uma camada com baixo índice de refração, n_L , e sendo n_1 o índice de refração do meio incidente, a estrutura de multicamadas é organizada por uma sequência de filmes bem caracterizada: HL, HL, HL, ..., HL, H. de forma que a matriz característica (Eq.4.6.1- 3) destas multicamadas é de $2N+1$ camadas, onde N é o número de vezes em que HL é usada [89]:

$$M_{2N+1} = \begin{bmatrix} 0 & \left(-\frac{i}{n_H}\right)\left(\frac{n_H}{n_L}\right)^N \\ \left(-in_H\right)\left(\frac{n_i}{n_H}\right)^N & 0 \end{bmatrix} \quad \text{Eq.5.2.4- 1}$$

Isto conduz a refletância:

$$R_{2N+1} = \left[\frac{1 - \left(\frac{n_H}{n_1}\right)\left(\frac{n_H}{n_1}\right)\left(\frac{n_H}{n_L}\right)^{2N}}{1 + \left(\frac{n_H}{n_1}\right)\left(\frac{n_H}{n_1}\right)\left(\frac{n_H}{n_L}\right)^{2N}} \right]^2 \quad \text{Eq.5.2.4- 2}$$

Esta última expressão indica que a refletância aumenta rapidamente, com a razão $\frac{n_H}{n_L}$

e com N .

5.2.6 Espectrofotômetros de Fabry-Perot

Espectrofotômetros baseados em cavidades de Fabry-Perot convencionalmente podem usar elementos de seleção de comprimentos de onda dispostos como varredura e tipo matriz.

- **Seletor de comprimento de onda do tipo varredura**

Um espectrofotômetro ajustável que utiliza a cavidade de Fabry-Perot como elemento selecionador de comprimentos de onda no modo varredura, e que pode incorporar lentes e um fotodetector no plano focal, é ilustrado na Figura 5.2.6- 1.

Em uma cavidade com o espaço entre espelhos fisicamente ajustável, sintonizam-se diferentes comprimentos de onda de ressonância. Estes filtros de banda passante sintonizável podem ser projetados para varrer uma pequena região de comprimentos de onda para permitir um ajuste espectral preciso.

Então, um projeto de um espectrofotômetro baseado no Fabry-Perot do tipo varredura requer: alta seletividade, baixa absorção nos espelhos e cavidade e fotodetector de alta resolução, de acordo com a faixa espectral em medição. Uma pequena mudança no espaçamento dos espelhos causa uma mudança na FSR e um substancial deslocamento do comprimento de onda de ressonância, λ_q .

Figura 5.2.6- 1: Espectrofotômetro tipo varredura

- **Seletor de comprimento de onda do tipo matriz**

No seletor de comprimento de onda do tipo matriz de *etalons* Fabry-Perot (cavidades com distancia fixa entre refletores), o meio entre dois espelhos é um filme fino sólido. Cada um dos *etalons* é formado com largura ajustada para diferentes comprimentos de onda de ressonância. Debaixo de cada *etalon* um fotodetector é posicionado para medir a corrente elétrica associada com a radiação do comprimento de onda de ressonância correspondente. A Figura 5.2.6- 2 mostra o espectrofotômetro tipo matriz. A luz incidente, I , é condicionada de tal maneira que todos os *etalons* são irradiados uniformemente e somente uma fração de toda a luz, I/n , encontra os *etalons* da matriz de n -*etalons*. A focalização de lentes não é necessária neste caso, pois os fotodetectores são posicionados diretamente debaixo dos *etalons*.

Figura 5.2.6- 2: Espectrofotômetro tipo matriz com *etalons* Fary-Perot, cada um com um fotodetector.

5.2.7 Reconstrução do Espectro.

Um espectro pode ser considerado como a soma de infinitas linhas espectrais monocromáticas de diferentes comprimentos de onda. Um espectrofotômetro produz uma saída elétrica que assim representa o espectro da luz incidente. O espectro de uma fonte de luz então pode ser formado de linhas espectrais simples correspondentes ao comprimento de onda de ondas monocromáticas. Contudo, ao passar pelo espectrofotômetro o perfil da linha espectral tem uma largura finita (Figura 5.2.7- 1).

Figura 5.2.7- 1: a) Espectro real de uma fonte de luz monocromática, registro de um espectrofotômetro “ideal”, b) Registro do espectro com um instrumento real.

Então, a relação entre o perfil da linha espectral medida pelo espectrofotômetro (resposta a um impulso), o espectro de entrada e o espectro registrado, é definido por:

$$R(\lambda) = L(\lambda) * P(\lambda)$$

Eq.5.2.7- 1

onde $R(\lambda)$ é o espectro registrado pelo espectrofotômetro, $L(\lambda)$ o espectro de entrada a ser analisado e $P(\lambda)$ o perfil de linha do espectrofotômetro. A função gravada $R(\lambda)$ é a convolução do espectro de entrada e da linha do perfil do espectrofotômetro. O perfil da linha espectral do espectrofotômetro é função de vários parâmetros: a largura do feixe de entrada, do fenômeno de difração, da qualidade das deposições dos filmes, alinhamentos e aberrações.

O espectrofotômetro tipo matriz provê um número discreto de respostas espectrais determinado pelo número de canais da matriz de *etalons* (ajuste da faixa espectral). Se definimos uma matriz de n *etalons* cobrindo a parte visível do espectro (3900 – 7600 Å) e se a função resposta do comprimento de ondas para cada *etalon* é conhecida, o dispositivo pode reconstruir por simulação o espectro de emissão da fonte monitorada.

Considerando um espectrofotômetro formado por uma matriz de *etalons* de Fabry-Perot, onde cada um possui um detector adequado para o seu comprimento de onda associado, uma luz com certa distribuição espectral $L(\lambda)$, que atinge a entrada deste dispositivo, produzirá uma resposta individual em cada um dos *etalons* em toda faixa espectral e fornecerá a resposta completa do espectrofotômetro para todos os comprimentos de onda. Quando o espectro de entrada $L(\lambda)$ passa através do espectrofotômetro a saída é dada pelas n correntes dos n *etalons* ($I_1, I_2, \dots, I_n$).

Usando as propriedades inerentes deste sistema é possível definir a matriz $I_{1 \times n}$ para representar as correntes de saída do espectrofotômetro e a resposta do espectro de entrada a ser analisado. A matriz de calibração C_{nm} contém a resposta individual de cada *etalon* sobre toda a faixa espectral com o incremento determinado pela resolução. O espectro registrado, fornecido pela matriz R_{1n} , é a resposta do espectrofotômetro para o espectro de entrada na faixa espectral.

$$[I_1 \quad I_2 \quad \dots \quad I_n] \cdot \begin{bmatrix} c_{11} & c_{12} & \dots & c_{1n} \\ c_{21} & c_{22} & \dots & c_{2n} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ c_{n1} & c_{n2} & \dots & c_{nn} \end{bmatrix} = [R_1 \quad R_2 \quad \dots \quad R_n] \quad \text{Eq.5.2.7- 2}$$

Este espectro registrado e definido como R_{1n} é obtido com acurácia que depende do perfil de linha do espectrofotômetro e da luz dispersa (difusão para o componente óptico e incorreta iluminação do espectrofotômetro). Para a otimização dos coeficientes C da matriz

para uma faixa específica de comprimentos de onda da fonte de luz de entrada, muitas técnicas de processamento de sinais são usadas para simular o espectro.

5.2.8 Cavity ressonante de Fabry-Perot ajustável

Muitos grupos de pesquisa atingiram pleno sucesso e ótimos resultados na obtenção de filtros ópticos ajustáveis de Fabry-Perot. Alguns utilizando ajuste mecânico, elétrico (eletrostático), eletromecânico (piezoatuadores), etc. Cada um dos conceitos atribui características peculiares e limitações aos dispositivos projetados. Pelo que foi tratado até aqui, a intensidade da luz transmitida através de um *etalon* na direção θ é dada pela fórmula de Airy:

$$I(\delta) = \frac{I_0}{1 + \frac{4r}{(1-r)^2} \sin^2\left(\frac{\delta}{2}\right)} \quad \text{Eq.5.2.8- 1}$$

Sendo que $\delta = \frac{2\pi}{\lambda} 2d \cos \theta$, d é o *gap* da cavidade e r a refletividade dos refletores.

Simulando alguns parâmetros na formula de Airy, constata-se que o ajuste ou sintonia de um espectrofotômetro de Fabry-Perot realiza-se de três maneiras diferentes (Eq.5.2.8- 1): a) Variando o ângulo de incidência, Figura 5.2.8- 2(a); b) Variando a refletividade dos refletores, Figura 5.2.8- 2(b); c) Variando a distância entre refletores ou *Gap*, Figura 5.2.8- 3.

Figura 5.2.8- 1a: Ajuste da Função de Airy: Variando o ângulo de incidência ($\Delta\theta=1^\circ$).

Observa-se que a variação da variável θ , ângulo de incidência, produz uma variação espectral não linear além de apresentar sérios problemas para uma montagem planar.

Figura 5.2.8- 2b: Ajuste da Função de Airy: Variando a refletividade dos retores ($\Delta r=0,2$).

Observa-se que a variação da variável r , refletividade dos retores, produz uma variação do fator de qualidade na intensidade do espectro fixo transmitido. Porém, vemos a variação da variável d , distância entre os retores, produz a variação da resposta espectral.

Figura 5.2.8- 3: Ajuste da Função de Airy pela variação do GAP ($\Delta d=2\mu m$).

6 Desenvolvimento e Projeto do FIV - materiais e métodos

Filtros de interferência são formados pela deposição de filmes finos em multicamadas de materiais dielétricos que constituem os refletores de Bragg de refletância fixada e compõem, neste caso, os filtros ópticos do tipo passa-banda. Quando se deseja obter um deslocamento da resposta em comprimentos de onda é necessário o ajuste de um dos parâmetros (*gap*, ângulo, meio) da fórmula de Airy Eq.5.2.8- 1. No caso específico em que se deseja um deslocamento apreciável da resposta em comprimento de onda, em um dispositivo sem partes móveis, o recurso do ajuste do ângulo de incidência é inviável e resta como única alternativa do uso da variação do *gap*.

Este trabalho se propôs a realizar o estudo, projeto e construção de um filtro baseado na extensão do conceito da variação do *gap* para se atingir a condição em que ele possa variar linearmente ao longo de uma dimensão a "espessura" da cavidade, *gap*, para se obter a transmitância espectral linearmente variável ao longo desta dimensão.

Assim, dessa forma, estes filtros de interferência variável podem ser fabricados para oferecer uma variação da resposta espectral como uma função do espaço em uma ou duas dimensões, que correspondem ao comprimento e a largura do filtro. Neste caso, é desejável uma diferença na espessura (inclinação) e com a largura o mais planar possível.

O filtro de interferência variável (FIV) de banda passante $\lambda_0 = 671$ nm, segundo o projeto apresentado na Tabela 6.1- 2, está previsto para ter a espessura da cavidade no centro do seu comprimento ativo em 229,70 nm, porém deverá possuir um perfil linearmente variável ao longo do comprimento para exibir as principais características do filtro proposto. As propriedades de transmissão decorrentes da variação linear da espessura podem ser caracterizadas opticamente em algumas posições representativas ao longo do gradiente do filtro resultante. Estas medidas implicam na caracterização do deslocamento do pico de transmissão em função do comprimento do filtro e do parâmetro responsável pela sua seletividade, ou seja, a largura a meia altura (FWHM) do espectro transmitido. Contudo, o perfil da espessura deve ser caracterizada utilizando-se uma técnica de caracterização adequada para avaliar a inclinação da espessura da camada que deve corresponder à função de transferência do filtro e, com isso, validar os métodos desenvolvidos para deposição de filmes finos.

6.1 Simulações

Dispondo-se dos índices de refração e da espessura (n_i , d_i) dos materiais utilizados numa deposição em pilha de filmes finos, é possível calcular as propriedades ópticas do filtro resultante. Mais precisamente, as propriedades ópticas dependem da relação da espessura óptica pelo comprimento de onda para cada camada $(n_i \cdot d_i)/\lambda$.

Definimos, então, o projeto de um filtro de comprimento de onda central de $\lambda_0 = 671$ nm (Tabela 6.1- 1). O projeto do filtro com cavidade inclinada ainda não dispõem de um modelamento e de um software dedicado; assim os cálculos são realizados considerando-se uma superposição de vários filtros com os mesmos refletores e variando-se a espessura da cavidade. A superposição foi tomada como solução de projeto para o protótipo. Desta forma, nas simulações e no projeto foram utilizado os softwares: “TF-calc” [90] e “Design” [91], nas versões de demonstração, e o software livre “OpenFiltres” [81], com os quais são otimizados os parâmetros do filtro de interferência variável (FIV). Inicialmente projetamos um filtro óptico de banda estreita convencional (cavidade homogênea), mostrado na Tabela 6.1- 2.

Tabela 6.1- 1: Projeto do filtro de cavidade homogênea de banda estreita $\lambda_0 = 671$ nm.

			Material	Espessura Óptica	Índice de Refração	Espessura (teoria)	Espessura Depositada
15		←	TiO ₂	$\lambda/4$	2,28@671,0nm	72,96nm	nm
14		←	SiO ₂	$\lambda/4$	1,48@671,0nm	114,90nm	nm
13		←	TiO ₂	$\lambda/4$	2,28@671,0nm	72,96nm	nm
12		←	SiO ₂	$\lambda/4$	1,48@671,0nm	114,90nm	nm
11		←	TiO ₂	$\lambda/4$	2,28@671,0nm	72,96nm	nm
10		←	SiO ₂	$\lambda/4$	1,48@671,0nm	114,90nm	nm
9		←	TiO ₂	$\lambda/4$	2,28@671,0nm	72,96nm	nm
8		←	SiO ₂	$\lambda/2$	1,48@671,0nm	229,79nm	nm
7		←	TiO ₂	$\lambda/4$	2,28@671,0nm	72,96nm	nm
6		←	SiO ₂	$\lambda/4$	1,48@671,0nm	114,90nm	nm
5		←	TiO ₂	$\lambda/4$	2,28@671,0nm	72,96nm	nm
4		←	SiO ₂	$\lambda/4$	1,48@671,0nm	114,90nm	nm
3		←	TiO ₂	$\lambda/4$	2,28@671,0nm	72,96nm	nm
2		←	SiO ₂	$\lambda/4$	1,48@671,0nm	114,90nm	nm
1		←	TiO ₂	$\lambda/4$	2,28@671,0nm	72,96nm	nm
		←	Quartzo		1.45		

Uma representação pictórica da pilha de camadas que compõe o filtro pode ser ilustrada conforme a Figura 6.1- 1.

Figura 6.1- 1: Esquema do filtro de cavidade homogênea de banda estreita.

A resposta espectral deste filtro de *gap* homogêneo de 229,79 nm, simulada no programa “Design” da TFG Software, é mostrada na Figura 6.1- 2:

Figura 6.1- 2: Resposta espectral simulada do filtro homogêneo $\lambda_0 = 671$ nm com, *gap* de 229,79 nm.

Tendo como base o filtro convencional proposto na Tabela 6.1- 1, usando a superposição dos estados adjacentes considerados no filtro FIV Tabela 6.1- 2 onde a espessura da camada № 8 de SiO₂ correspondente à cavidade deve variar linearmente de 180 a 350 nm, pretende-se obter a resposta espectral simulada do filtro de cavidade in-homogênea.

Tabela 6.1- 2: Projeto do filtro FIV 671 nm.

229,79nm

15

14

13

12

11

10

9

8

7

6

5

4

3

2

1

←

←

←

←

←

←

←

←

←

←

←

←

←

←

←

TiO₂

SiO₂

TiO₂

SiO₂

TiO₂

SiO₂

TiO₂

SiO₂

TiO₂

SiO₂

TiO₂

SiO₂

TiO₂

SiO₂

Quartzo

λ/4

λ/4

λ/4

λ/4

λ/4

λ/4

λ/4

λ/4

λ/4

λ/4

λ/4

λ/4

λ/4

λ/4

2,28@671,0nm

1,48@671,0nm

2,28@671,0nm

1,48@671,0nm

2,28@671,0nm

1,48@671,0nm

2,28@671,0nm

1,48@671,0nm

2,28@671,0nm

1,48@671,0nm

2,28@671,0nm

1,48@671,0nm

2,28@671,0nm

1,48@671,0nm

1.45

72,96nm

114,90nm

72,96nm

114,90nm

72,96nm

114,90nm

72,96nm

114,90nm

72,96nm

114,90nm

72,96nm

114,90nm

72,96nm

114,90nm

nm

nm

nm

nm

nm

nm

nm

nm

nm

nm

nm

nm

nm

nm

λ/2

(0,4 – 0.74)

229,79nm

(180-350)

nm

Uma representação pictórica da pilha de camadas que compõe o FIV pode ser conforme a Figura 6.1- 3 onde se observa a cavidade não homogênea, isto é, linearmente inclinada.

Figura 6.1- 3: Esquema pictórico do filtro dielétrico de interferência variável (FIV) de três fases de deposição.

A resposta do filtro convencional de banda estreita de *gap* de 229,79 nm, simulada no programa “Design” da TFG Software, é mostrada na Figura 6.1- 2.

A Figura 6.1- 4 mostra a sobreposição da resposta espectral do FIV para o *gap* variando de 183,85 nm a 344,69 nm em passos discretos, simulando a inclinação pretendida.

Figura 6.1- 4: Resposta espectral simulada para uma variação na espessura da cavidade não homogênea de 183,85 nm a 344,69 nm em passos de 1 QWOT=0.25 (diferença na espessura da cavidade de 160 nm indicada pela cunha no desenho).

6.2 Modelo do processo de deposição

Os processo de deposição usado neste trabalho é o PVD (Physical Vapor Deposition), nos métodos de evaporação por feixe de elétrons (*e-beam*) e o de evaporação térmica. Nos processos de deposição de filmes, ocorrem naturalmente variações de espessura sobre a superfície depositada. Assim, sempre que se deseja um filtro homogêneo, existe a necessidade de reduzir este fenômeno de maneira a manter as propriedades ópticas pela regularidade da deposição ao longo de toda a superfície. Para aumentar a uniformidade da espessura de deposição, o porta amostras normalmente é colocado a girar na parte superior da câmara de depósito [92]. Máscaras de sombreamento são projetadas e utilizadas para deposição de revestimentos uniformes em substratos planos, bem como em substratos esféricos fortemente curvos e com grandes diâmetros em sistemas planetários em rotação. Utilizando as máscaras de sombreamento modeladas teoricamente, filmes mais uniformes são obtidos [93].

Contudo, por outro lado, a direção pretendida por este trabalho é aumentar, de forma controlada e previsível, a não uniformidade da espessura do produto das deposições, de maneira a se obter as propriedades ópticas espaciais variáveis através de gradientes de

espessura dos filmes finos depositados nas direções pretendidas, de acordo com o ponto a ser iluminado [94]. Além disso, deseja-se que o filtro resultante seja capaz de resistir a ambientes severos e, para isso, a deposição deve ser realizada com materiais selecionados (materiais *hard* como, por exemplo, SiO_2 e TiO_2 em contraposição aos materiais *soft* como, por exemplo, MgF_2 , ou uma mistura $\text{MgF}_2 + \text{BaF}_2$ e ZnS) e por processos de deposição de alta energia.

O princípio básico adotado para deposição não uniforme consiste em usar uma máscara mecânica na câmara de deposição para obliterar o jato do material evaporado, controlando a distribuição da espessura. Especificamente é desejada uma deposição inclinada, em forma de cunha, e os parâmetros de ajuste para obter a inclinação da espessura desejada são, a forma da máscara de obliterar (doravante denominada de máscara) e a trajetória da amostra durante processo de deposição, como mostrado na Figura 6.2- 1.

Figura 6.2- 1: Representação da geometria do processo de deposição. Reproduzido de [92] e de [94].

onde a definição dos símbolos são dados na Tabela 6.2- 1 mostrada abaixo:

Tabela 6.2- 1: Definição dos Símbolos.

Símbolo	Definição
$O(0,0,0)$	Centro de coordenadas
$P(L\cos\phi, L\sin\phi)$	Posição da fonte
L	Distância OP
K	Ponto arbitrário substrato
$\vec{n}$	Vetor normal em K
R	Raio - posição do suporte
r	raio - distância PK
α	Ângulo polar de K
θ	Ângulo entre PK e Z
ϕ	Azimuth da rotação da fonte em torno de Z
ϕ'	Azimuth da rotação do substrato em torno de Z
θ'	Ângulo entre PK e $\vec{n}$

Como não existem equipamentos para deposições controladamente não uniformes, houve a necessidade de projetar e produzir uma máscara de sombreamento a ser adaptada no interior da câmara de deposição, entre o alvo e as amostras, de uma evaporadora BALZER PLS-500, como mostra a Figura 6.2- 2.

Figura 6.2- 2: Representação pictórica do equipamento PLS-500 adaptado.

Na prática da construção do filtro com camada inclinada, apresentou-se a questão das alterações necessárias no equipamento de deposição para adaptá-lo a essa nova finalidade. Assim determinou-se que a máscara fosse independente do equipamento. Dessa maneira, considerando essas limitações, foi projetada uma máscara adaptável e removível. Essa condição de projeto impôs uma limitação grave nas tarefas de execução dos trabalhos: a necessidade da deposição em três fases com a quebra do vácuo na fase de deposição da camada central (cavidade).

No caso do uso da máscara entre o alvo e a amostra, a influência da máscara utilizada pode ser avaliada para um conjunto de pontos selecionados na amostra. A máscara a ser fixada no interior da câmara entre o alvo e as amostras é ilustrada na Figura 6.2- 3.

Figura 6.2- 3: Ilustração da máscara estática proposta e da rotação das amostras.

O equipamento utilizado neste trabalho pertence ao *Optical Beam Quality and Control Laboratorium* do Centro de Laser e Aplicações (CLA) do IPEN, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, que dispõem de uma evaporadora Balzer PLS 500 que conta com bomba mecânica e bomba turbo molecular refrigerada a água. O sistema possui duas fontes de evaporação, resistiva e o por feixe de elétrons, e ambas são utilizadas neste desenvolvimento. A limpeza dos substratos é feita por processos químicos e físicos antes de serem dispostas na câmara de evaporação e, no interior da mesma, pode-se dispor de um processo de "*glow discharge*" para assistir o abaixamento da pressão. O monitoramento da espessura é feito através da variação de frequência de um cristal oscilador acoplado ao sistema de controle e situado no interior da câmara. Este cristal possui uma frequência própria de vibração que é uma função da sua espessura. O PLS 500 conta com um dispositivo que permite girar e ajustar a rotação do dispositivo porta amostras (planetário), Figura 6.2- 4. O equipamento possui também um sistema de aquecimento de substratos que ajustamos para 150°C . A pressão inicial utilizada é da ordem de 10^{-6} mbar e injetou-se, durante a deposição, gás oxigênio a uma pressão de 2.10^{-4} mbar para possibilitar a correta estequiometria na deposição do TiO_2 [92] e a pressão de processo na evaporadora foi de 5.10^{-4} mbar. Para as medidas experimentais de caracterização utilizou-se o espectrofotômetro Cary-Olis-17D, com um suporte mecânico ajustável adaptado, pertencente ao CLA-IPEN; espectrofotômetro UV VIS IR, modelo lambda 900, pertencente ao Laboratório de Óptica do Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo – IPT, ambos da marca Perkin Elmer;

espectrofotômetro UV-1650 PC marca Shimadzu da POLI/PSI/LME; e o espectrofotômetro USB400 do IF-LAMFI.

Figura 6.2- 4: Foto do porta amostras da câmara de deposição, sem a máscara.

Para adequação do método, diversos parâmetros que dependem do material e outros relacionados ao equipamento, tais como o sentido e a direcionalidade da fonte evaporadora, inicialmente não eram suficientemente conhecidos e consistentes e, portanto, a previsibilidade era baixa. Contudo, foi utilizada a estratégia de depositar uma camada única de material em grandes substratos para estudar, conhecer e aperfeiçoar os parâmetros até alcançar uma boa concordância entre as distribuições desejadas e as obtidas nas medidas da espessura.

Figura 6.2- 5: Foto da câmara de depósito sem o mecanismo de máscara.

Utilizou-se o equipamento PLS-500 (Figura 6.2- 4 e Figura 6.2- 5) para estes testes iniciais e ajustes, quando foram obtidas algumas amostras de filtros de banda estreita usando os chamados materiais moles (MgF_2 e ZnS).

Tabela 6.2- 2: Projeto do filtro homogêneo de banda estreita 655 nm.

			Material	Espessura Óptica	Índice de Refração	Espessura (teoria)	Espessura Depositada
15		←	ZnS	$\lambda/4$	2.42@655,0nm	54,10nm	nm
14		←	MgF ₂	$\lambda/4$	1.37@655.,nm	95,70nm	nm
13		←	ZnS	$\lambda/4$	2.42@655,0nm	54,10nm	nm
12		←	MgF ₂	$\lambda/4$	1.37@655,0nm	95,70nm	nm
11		←	ZnS	$\lambda/4$	2.42@655,0nm	54,10nm	nm
10		←	MgF ₂	$\lambda/4$	1.37@655,0nm	95,70nm	nm
9		←	ZnS	$\lambda/4$	2.42@655,0nm	54,10nm	nm
8		←	MgF ₂	$\lambda/2$	1.37@655,0nm	191,40 nm	nm
7		←	ZnS	$\lambda/4$	2.42@655,0nm	54,10nm	nm
6		←	MgF ₂	$\lambda/4$	1.37@655,0nm	95,70nm	nm
5		←	ZnS	$\lambda/4$	2.42@655,0nm	54,10nm	nm
4		←	MgF ₂	$\lambda/4$	1.37@655,0nm	95,70nm	nm
3		←	ZnS	$\lambda/4$	2.42@655,0nm	54,10nm	nm
2		←	MgF ₂	$\lambda/4$	1.37@655,0nm	95,70nm	nm
1		←	ZnS	$\lambda/4$	2.42@655,0nm	54,10nm	nm
		←	Quartzo		1.45		

A Figura 6.2- 6 mostra os filtros convencionais obtidos com a chamada cavidade homogênea, conforme o projeto da Tabela 6.2- 2, e foram caracterizados em relação as sua resposta espectral, através do espectrofotômetro Cary 17D com resolução de 0,5 nm cujos gráficos são apresentados na Figura 6.2- 7, Figura 6.2- 8 e na Figura 6.2- 9.

Figura 6.2- 6: Alguns Filtros produzidos com cavidade homogêneas.

Na deposição destes filmes, considerou-se que o planetário onde está localizado o suporte das amostras, é formado por uma calota côncava que gira no interior da evaporadora. Escolheu-se substratos grandes para ressaltar os efeitos dos parâmetros de deposição, e, pretendendo estudar a influência do posicionamento das amostras na espessura do material

depositado, tais amostras foram distribuídas em relação ao planetário em posições tangencial e radial (detalhe da Figura 6.2- 4).

Figura 6.2- 7: Espectro da amostra na posição n.1 ($\lambda_0 = 655 \text{ nm}$).

Observou-se no espectro do filtro resultante (Figura 6.2- 7) que o pico de transmitância em uma posição fixa em um dos extremos da amostra ocorre em 652 nm, sendo que o comprimento de onda central previsto deste filtro é $\lambda_0 = 655 \text{ nm}$.

Figura 6.2- 8: Espectro da amostra na posição central n.2 ($\lambda_0 = 655 \text{ nm}$).

O espectro desta amostra obtido para a posição central (Figura 6.2- 8) apresenta o pico de transmissão em 655 nm, conforme esperado.

E o espectro obtido para o extremo oposto da lâmina é apresentado na Figura 6.2- 9, onde se observa que o pico de transmissão é de 657 nm.

Figura 6.2- 9: Espectro da amostra na posição n.3 ($\lambda_0 = 655 \text{ nm}$)

Verificou-se que o efeito da posição da amostra sobre as deposições pode ser considerado marginal, em relação comprimento da mesma, da ordem de 10^{-2} nm/mm .

Na continuidade dos trabalhos o projeto da máscara, necessária às deposições das camadas inclinadas, segue o seguinte caminho: determinação do local e da posição da instalação, determinação do formato e caracterização da mesma.

O local e a posição da instalação da máscara no interior da câmara deve ser entre o alvo e as amostras.

Figura 6.2- 10: Alocação do espaço horizontal entre o alvo a o porta amostra para acomodar a máscara.

Segue-se a essa alocação do espaço apropriado a receber a máscara Figura 6.2- 10, a realização de simulações para obter a forma adequada da máscara.

Para se obter uma deposição linear em forma de rampa em uma dimensão da amostra, o formato do contorno pretendido, considerando a rotação do porta-amostra, foi selecionado entre as opções estudadas (Figura 6.2- 11) como sendo um ramo de espiral disposto entre um raio menor e um raio maior determinados pelo comprimento da amostra, as formas alternativas podem ter seus efeitos simulados através do modelamento por um circuito PWM (Pulse-Width Modulation), modulação por largura de pulso, onde uma janela temporal de deposição linearmente variável e seletiva é obtida na convolução da máscara fixa com o feixe do material evaporado sobre as amostras em rotação no planetário da evaporadora.

O contorno selecionado foi concretizado em uma lâmina de alumínio para formar a máscara de sombreamento de deposições que deve ser instalada entre a fonte do material evaporado e o porta-amostras girante e numa determinada posição próxima das amostras.

Cheng-Hao Ko [et al.] em [94] propõem um modelamento analítico baseado em simulações usando um feixe de luz, mas, por outro lado, nesta tese o caminho é diverso, qual seja, o modelamento por um artifício matemático viabilizado por simulação computacional, basicamente obtida por uma rotina no MATLAB. Assim a seleção do formato da máscara foi feita com o auxílio de uma rotina no programa Matlab que simula a situação de uma deposição com taxa de deposição constante na qual foi possível se analisar a influencia do perfil para a máscara de sobreamento.

O desenvolvimento do software de simulação determinou que as formas preferenciais são aquelas que podem ser representadas por funções contínuas por partes e que podem ser parametrizadas. Neste caso, embora as formas poligonais sejam experimentalmente viáveis, elas foram descartadas para privilegiar a simplicidade do código.

Figura 6.2- 12: a) Perfil simulado: ramo da espiral logarítmica. Em verde é mostrado o raio mínimo na amostra, em vermelho o raio máximo e em azul o perfil da máscara, b) Resultado do perfil da espessura da deposição simulada

No caso da espiral arquimediana, Figura 6.2- 13, a função de transferência é:

$$E(\alpha) = k \int_0^{2\pi} (\alpha - b\phi)(\alpha_B - \alpha) \frac{(\cos \theta)^\sigma \cos \theta'}{r^2} d\phi \quad \text{Eq.6.3- 2}$$

onde

$$(\alpha + b\phi) = \begin{cases} 1: \alpha \leq \alpha_B \\ 0: \alpha > \alpha_B \end{cases}$$

Figura 6.2- 13: (a) Perfil simulado: ramo da espiral arquimediana. Em verde é mostrado o raio mínimo na amostra, em vermelho o raio máximo e em azul o perfil da máscara, (b) Resultado do perfil da espessura da deposição simulada.

Foi constatado pela simulação que uma máscara com o perfil da espiral arquimediana usada para obliterar o fluxo do material evaporado pode ser bem sucedida na deposição de um filme com perfil de espessura linearmente variável. Seguindo esse resultado, através da listagem do raio da espiral em função do ângulo, foi realizado o esboço do projeto, conforme a Figura 6.2- 14.

a)

b)

c)

d)

Figura 6.2- 14: a) Desenho do perfil simulado da máscara; b) Desenho mecânico; c) Peça executada em chapa de alumínio; e d) Mascara oblaturadora com adição de dispositivo anti-sobreamento .

Cheng-Hao Ko [et al.] [94] aborda a baixa a produtividade dos métodos de obtenção de revestimentos de espessura não homogêneas, contudo, no método abordado nesta tese a produtividade pode ser igualada a da produção dos revestimentos uniformes, dependendo do equipamento utilizado. A Figura 6.2- 15 mostra uma placa suporte de amostras que permite a produção de sessenta e três (63) peças por ciclo de deposição e demonstra a alta produtividade deste método.

Figura 6.2- 15: Suporte para 63 amostras.

Utilizando a máscara construída, foi depositado um filme de TiO_2 sobre um substrato de vidro para efeito da caracterização dos efeitos alcançados. A amostra gerada é mostrada na Figura 6.2- 16:

Figura 6.2- 16: Foto do filme de TiO_2 sobre vidro.

Da mesma forma, foi produzida uma deposição de Alumínio sobre vidro, apresentada na Figura 6.2- 17.

Figura 6.2- 17: Foto do filme de Al sobre vidro.

O propósito deste trabalho de obter o filtro de interferência linearmente variável (FIV) foi atingido com a deposição dos refletores dielétricos multicamadas e a interposição de uma camada inclinada correspondente à cavidade, já o Filtro Variável de Densidade Neutra (VNDF), pode ser obtido com a deposição de metal e a sua subsequente passivação. Este tipo de filtro (VNDF) pode ser um excelente instrumento para ajustes precisos de espectrofotômetros, monocromadores, lasers, etc., e podem ser utilizados dois ao mesmo tempo para controlar a transmissão de um feixe óptico, onde são movidos diferencialmente para produzir a variação da energia a ser transmitida.

Contudo, como já mencionado, apresentou-se a restrição de projetar um sistema de deposição sem alterar o equipamento de deposição, este fato se apresentou inicialmente como a grave circunstância da necessidade de "quebra do vácuo" para a colocação ou retirada da máscara nas etapas correspondentes da deposição da camada central (cavidade), porém posteriormente verificou-se que este problema é apenas aparente. Assim, um produto do processo de deposição nestas condições, com a quebra de vácuo, é mostrado pela Figura 6.2-18 e apresenta uma aparência com características ópticas aparentemente diversas da esperada, sem efeitos aparentes de difração, porém a sua caracterização indica que permanecem nesta amostra os efeitos de dispersão que são desejados.

Figura 6.2- 18: Amostra do filtro depositado com cavidade inclinada, realizada em três fases.

Por outro lado deve-se, quando for desejado evitar esta aparência, deve-se contornar a quebra do vácuo e, dessa forma, foram produzidas as amostras de filtros em uma só fase de deposição considerando-se que o valor da refletância mínima dos espelhos de Bragg na faixa considerada fosse preservada, isto é, as deposições foram realizadas com a presença da máscara em todo o processo, como esquematiza a Figura 6.2- 19. Contudo, em relação à deposição em três fases, foi observado nas simulações, que a refletividade dos espelhos dielétricos em fase única aumentam na direção do aumento da espessura, produzindo uma

pequena redução da largura a meia altura na mesma direção, efeito divergente àquele inicialmente previsto para o processo em três fases de deposição.

Figura 6.2- 19: Esquema pictórico do filtro dielétrico de interferência variável (FIV) de fase única de deposição.

Dois tipos de amostras processadas dessa maneira são apresentados Figura 6.2- 20 e na Figura 6.2- 21.

Figura 6.2- 20: Amostra do filtro depositado com a máscara em uma única fase; Ref. LF3 $\lambda_0 = 541$ nm $[(HL)^2(H)(L)(L)(H)(LH)^2]$.

A Figura 6.2- 20 apresenta um filtro de $\lambda_0 = 641$ nm realizado com a máscara em uma única fase de deposição.

Figura 6.2- 21: Amostra do filtro depositado com a máscara em uma única fase; Ref. LF4 $\lambda_0 = 671$ nm $[(HL)^4(H)(L)(L)(H)(LH)^4]$

A Figura 6.2- 21 apresenta um filtro realizado em uma única fase de deposição com a máscara para comprimento de onda central de 671 nm.

A Figura 6.2- 22 representa o esquema geral funcional do FIV onde:

$f(x_1)$ = Transmitância da luz λ_1

$f(x_2)$ = Transmitância da luz λ_2

$f(x_3)$ = Transmitância da luz λ_3

*

*

$f(x_n)$ = Transmitância da luz λ_n .

E define-se razão espectral como a razão entre a cobertura espectral e o comprimento da área efetiva de variação linear do filtro que deve sobrepor a área de detecção do CCD ou PDA, como:

$$\alpha_{esp} = \frac{\lambda_n - \lambda_1}{x_n - x_1} \quad \text{Eq.6.3- 3}$$

Figura 6.2- 22: Esquema geral do princípio de funcionamento do FIV [1].

6.3 Aplicações e combinações do FIV

Uma instalação possível é a combinação de um filtro de interferência variável (FIV) com um dispositivo seletor de comprimentos de onda, segundo as indicações da Figura 6.3- 1. O FIV define uma linha espectral estreita e o dispositivo seletor (prisma, grade de difração ou um interferômetro) permite a determinação de linhas espectrais. Assim, cada uma das linhas do espectro selecionada pelo FIV pode ser decomposta pelo espectrofotômetro e analisado pelo detector.

Figura 6.3- 1: Combinação de um FIV com um espectrofotômetro convencional.

Uma outra aplicação para realçar o contraste de um interferômetro é usar mais de um FIV.

Figura 6.3- 2: Montagens com dois FIVs.

Para superar o problema da faixa espectral livre, uma composição com dois FIVs deslizando um em relação ao outro em contraposição (Figura 6.3- 2), pode ser usada para ressaltar a atenuação de ordens vizinhas. Em uma determinada posição coincidente tem-se uma janela espectral.

7 Caracterizações e resultados do FIV

Conforme Scapin [95] que propõe o uso da Fluorescência de raios-X para a determinação da composição química e da espessura de filmes finos, foram realizadas medidas de espessura da amostra de TiO_2 utilizando o equipamento EDX-720 – *Energy Dispersive X-Ray Spetrometer*, da Shimadzu, pertencente ao CQMA-IPEN, mostrado na Figura 7- 1, a e b.

Figura 7- 1: a) Foto do EDX-720 – *Energy Dispersive X-Ray Spetrometer*, b) Amostra acomodada na câmara de vácuo do equipamento.

Os dados obtidos são mostrados na Figura 7- 2:

Figura 7- 2: Ajuste de reta pelo método dos mínimos quadrados

E os resíduos calculados, são apresentados na Figura 7- 3:

Figura 7- 3: Resíduos Absolutos resultantes do ajuste

Nos gráficos, Figura 7- 2 e Figura 7- 3, observa-se a tendência linear dos dados. Com este resultado demonstrar-se a viabilidade da utilização de uma máscara com perfil arquimediano para a deposição de filmes finos inclinados, e, conseqüentemente, para a produção de filtros ópticos de camadas inclinadas, como FIV, produzido neste trabalho.

Foram realizadas também medidas de espessura em amostras de Alumínio depositado sobre lâminas de vidro. O tratamento destes dados aponta para um perfil de espessura não linear, contrariando as expectativas deste modelo de técnica de deposição.

Para comparação, medidas de espessura destas amostras com perfilômetro (marca TENCOR) e foi constatado um perfil irregular. Contudo, foi encontrada a explicação destas desconformidades pela análise da simulação dos dados obtidos destas amostras por RBS (Retroespalhamento de Rutherford), realizadas por bombardeio de $4H_e$ no acelerador de partículas do LAMFI [APENDICE A]. Estas simulações demonstraram que as amostras analisadas, obtidas por *e-Beam*, constituíram-se de camadas descontínuas compostas de concentrações diferentes de alumínio e oxigênio. E, desta maneira, fica evidente a necessidade de depositar o Al por evaporação térmica resistiva em fases intercaladas de deposição em relação à deposição dos óxidos, cuja formação necessita uma pressão parcial de oxigênio, e, assim, minimizar a formação do óxido de alumínio no processo de evaporação.

As amostras preliminares denominadas LF3 e LF4 apresentaram aspectos visual de ocorrência de difração e os efeitos de espalhamento, contudo foi verificado que suas propriedades ópticas não corresponderam aos parâmetros do projeto. Novos ajustes considerando o contorno do obliterador foram necessários para se obter a previsibilidade necessária. Para caracterizar a eficiência da máscara de sobreamento e ajustar os parâmetros de deposição, foram realizados novos ensaios no RBS agora com uma amostra multicamadas

projetada da seguinte forma: SiO₂ (225nm); TiO₂ (450nm); SiO₂(225) e TiO₂(675), conforme a Tabela 7- 1.

Tabela 7- 1: Espessura avaliada por RBS

Espessura (nm) versus Posição (mm)					
Ordem	Posição (mm)	SiO ₂ Camada 1	TiO ₂ Camada 2	SiO ₂ Camada 3	TiO ₂ Camada 4
1	0	60	190	84	241
2	6,16	88	234	92	283
3	14,39	105	262	89	316
4	20,63	107	293	103	329

Para melhor visualização destes resultados, segue a Figura 7- 4.

Figura 7- 4: Perfil de espessura da estrutura de multicamadas avaliadas por RBS.

Estes ensaios apresentados, permitem a definição do TFm (*Tooling Factor of Mask*) como a razão da espessura nominal depositada e a espessura efetiva medida, considerando apenas as duas camadas superiores da pilha de filmes finos caracterizada, devido a presumida queda da resolução na sistemática de caracterização nas camadas mais profundas, definimos o fator de ferramenta TF para a mascara projetada, $TFm_{TiO_2} = 2,050$ e $TFm_{SiO_2} = 2,181$.

Dessa maneira, foram realizadas sequencias de deposição e obtidas as amostras mostradas na Figura 7- 5, agora referenciadas por FIV, com a previsibilidade e repetibilidade desejadas.

Figura 7- 5: Amostras do FIV obtidas pelo processo descrito.

Na Figura 7- 5 são mostradas: a) adaptadores para o suporte de amostras para substratos retangulares (lâminas para microscopia); b) FIV depositado em três etapas e quebra de vácuo; c e d, FIV's depositados em uma única etapa de deposição; e, f, g e h) FIV's realizados pelo método e sistemática apresentada.

Assim as amostras de filtros com as camadas inclinadas linearmente (filtros FIV) foram obtidas com o uso do obliterador projetado e construído conforme descrito e suas

caracterizações foram realizadas com auxílio da instrumentação relacionada na página 106 dentre as quais se destaca o dispositivo de varredura especial incorporado no UV VIS IR, marca Perkin Elmer, modelo lambda 900, como mostra a Figura 7- 6.

Figura 7- 6: Dispositivo de varredura espacial.

A Figura 7- 7 apresenta os resultados obtidos correspondentes as amostras denominadas FIV1670_1 em que se localiza uma banda espectral entre 620 a 730 nm onde se encontra o efeito desejado. Também se verifica que cada espectro é representado por uma cor que corresponde a uma posição na dimensão do comprimento do filtro.

Figura 7- 7: Resultado da caracterização da amostra FIV1670_1.

A Figura 7- 8 apresenta os resultados correspondentes a amostra denominada FIV2670_1, onde igualmente um espectro é representado por uma cor correspondente a medida em uma posição do comprimento do filtro, isto é, um espectro espacialmente localizado.

Figura 7- 8: Resultado da caracterização da amostra FIV2670_1.

Separando a faixa espectral ativa e ampliando o gráfico, obtêm-se a Figura 7- 9.

Figura 7- 9: Ampliação da escala do espectro da amostra FIV2670_1.

Desta forma, foi verificado o valor máximo para cada pico de transmitância relativamente a sua posição e calculada a taxa de variação do deslocamento linear do comprimento de onda pelo deslocamento Figura 7- 10.

Figura 7- 10: Deslocamento da transmitância espectral máxima pelo deslocamento espacial - Ajuste de reta pelo método dos mínimos quadrados.

Figura 7- 11: Resíduos Absolutos resultantes do ajuste.

Da Figura 7- 10 foi obtida a taxa de 5,12(5) nm/mm, Eq.6.3- 3. Considerando o uso do PDA TSL1401 de 128 *pixels* de 63,5 μm de altura por 55,5 μm de comprimento e distância de centro a centro de 63,5 μm , calcula-se um comprimento ativo do sensor em 8,13(0,01) mm, correspondendo a uma faixa espectral de 41,6(4) nm que pode ser coberta pelo comprimento ativo do filtro de 13,00(0,01) mm. E, grosso modo, a faixa de transmissão espectral do filtro e seu comprimento ativo, a faixa espectral do sensor e seu comprimento ativo, são combinados para formar a faixa espectral de um dispositivo detector com uma determinada cobertura espectral resultante.

Um FIV, ref. FIV1670_3, com um comprimento ativo mínimo de 16,26 mm e resposta espectral entre 574,042 a 674,650 nm formou um detector com o PDA TSL1402 (ou LFL1402) que possui 256 detectores ativos ou Pixels, em um comprimento da sua área de detecção efetiva de 16,25(0,01) mm. Portanto, este FIV possui uma taxa de 5,12(5) nm/mm, atribui uma cobertura espectral para o detector de 100,61(0,01) nm e um fator de escala de 0,339(0,02)nm por Pixel. Um exemplo da aplicação deste conjunto e dos seus parâmetros em um sistema de aquisição de dados (DAS), foi a avaliação do espectro do um laser HeNe mostrado na Figura 7- 12 onde vê-se que o valor encontrado do comprimento de onda é 632,63(0,40)nm, e verifica-se que o valor obtido incorpora o valor nominal.

Figura 7- 12: Espectro do Laser HeNe-632,8 nm analisado pelo detector do EspectroLab.

Deve-se considerar ainda que, em muitas aplicações, a caracterização dos filtros FIV nos equipamentos espectrofotômetros “convencionais”, tais como os utilizados nas medidas apresentadas neste trabalho, podem não atender satisfatoriamente e plenamente todos os requisitos, já que apresentam um diâmetro do *spot* da luz incidente da ordem de milímetros e normalmente não possuem dispositivos para o deslocamento espacial das amostras. Para dar conta disso é necessário o desenvolvimento de uma instrumentação dedicada e uma nova metodologia, tal como a sugerida por Laëtitia et al [96], que atenda as exigências da medição da transmitância e refletância localizadas com resolução espacial da ordem de dezenas de micrometros sob um *spot* da ordem de 100 micrometros. Tal instrumentação é desejável tanto para caracterizar os filmes altamente não lineares (caso do FIV) como para aperfeiçoar os procedimentos para deposição de filmes altamente homogêneos.

8 Introdução a teoria espectrofotométrica

Neste capítulo pretende-se abordar tópicos sobre a espectrofotometria, sua utilização; a Lei de Lambert-Beer, sua aplicação; e, com isso, obter espectros de absorbância de diferentes espécies químicas na fase líquida.

O termo espectroscopia (ou geralmente espectrofotometria) é a designação para a técnica de levantamento de informações físico-químicas pela transmissão, absorção ou reflexão da energia radiante incidente através de uma amostra. O espectro é o resultado gráfico obtido do sinal do detector como uma função do comprimento de onda. Sua impressão gráfica pode ser chamada espectrograma ou simplesmente espectro.

Historicamente o termo espectroscopia designa o estudo da interação entre radiação e a matéria como uma função do comprimento de onda (λ), pois originalmente referia-se ao uso da luz visível dispersa por um prisma, isto é, o comprimento de onda. Este fundamento da interação de uma radiação eletromagnética e a matéria pode ser aplicado aos constituinte de uma amostra onde a energia incidente pode ser refletida, transmitida ou absorvida. A interação ocorre não somente quando houver ressonância entre a onda eletromagnética e uma partícula (átomo, molécula ou íon), mas também se a energia for mais alta que a necessária para ocorrer uma transição eletrônica.

Existem condições para que ocorra a absorção, a saber, a frequência da onda incidente deve coincidir com uma frequência natural de oscilação do sistema e que sejam satisfeitas as regras de seleção quânticas pertinentes ao sistema e à faixa de frequências envolvidas no caso particular.

8.1 Fundamentos teóricos

A espectroscopia de absorção UV-Vis utiliza-se da radiação eletromagnética onde os comprimentos de onda (λ) variam entre 200 a 780 nm. Ao ser estimulada por esta radiação, a molécula do composto pode sofrer transições eletrônicas e um processo de absorção de energia quantizada.

A absorção da energia transportada pela radiação UV-Vis incidente modifica a estrutura eletrônica da molécula em consequência de transições eletrônicas geralmente associadas aos elétrons não ligantes π e n envolvidos em suas ligações. Logo, é requerido que

a molécula contenha pelos menos um grupo funcional insaturado, C=C e/ou C=O, por exemplo, para dispor de orbitais moleculares π e n . Este chamado centro de absorção é conhecido como cromóforo, sendo principalmente o responsável pelas transições $\pi \rightarrow \pi^*$ e $n \rightarrow \pi^*$ que resultam da absorção da radiação eletromagnética que se enquadra em uma faixa espectral conveniente experimentalmente, diferentemente das transições $n \rightarrow \sigma^*$ e $\sigma \rightarrow \sigma^*$ que geralmente requerem radiações mais energéticas ($\lambda < 200$ nm).

Dois parâmetros fundamentais podem caracterizar as bandas de absorção: a posição espectral e a intensidade. A posição espectral corresponde ao comprimento de onda da radiação incidente responsável pela transição eletrônica e a intensidade é uma função, dentre outras variáveis, da energia dos orbitais moleculares e da probabilidade de transição.

Os espectros de absorção UV-Vis apresentam geralmente bandas largas resultantes da sobreposição das transições vibracionais e rotacionais sobre as transições eletrônicas.

A espectroscopia constitui uma das técnicas de maior abrangência usada pelos químicos analíticos para determinação de espécies moleculares em solução. Os elementos da tabela periódica, na sua grande maioria, podem ser determinados usando uma técnica apropriada de absorção molecular.

A energia associada às transições em uma molécula poliatômica é dada por:

$$E_{\text{molecular}} = E_{\text{eletrônica}} + E_{\text{vibracional}} + E_{\text{rotacional}} \quad \text{Eq.8.1- 1}$$

onde: a energia eletrônica está relacionada à distribuição dos elétrons em torno dos núcleos atômicos; a energia vibracional está associada com a vibração dos átomos ou grupos de átomos em torno das posições de equilíbrio nas ligações; a energia rotacional é devida à rotação da molécula em torno do seu centro de gravidade.

As três formas de energia são quantizadas, não podem assumir qualquer valor e seguem a seguinte ordem:

$$\Delta E_{\text{eletrônica}} > \Delta E_{\text{vibracional}} > \Delta E_{\text{rotacional}} \quad \text{Eq.8.1- 2}$$

A explicação para essa ordem das energias encontra-se na mecânica quântica, que postula que quanto maior o grau de confinamento da partícula, maior são as restrições para o seu movimento e, assim, maior será o grau de quantização de suas energias.

8.1.1 Introdução à espectrofotometria e Lei de Lambert-Beer

Os principais processos pelos quais a radiação interage com a amostra e pode ser analisada, são: a espectroscopia de absorção que correlaciona a quantidade da energia absorvida em função do comprimento de onda da radiação incidente; a espectroscopia de emissão que analisa a quantidade de energia emitida por uma amostra contra o comprimento de onda da radiação absorvida e consiste basicamente na re-emissão de energia previamente absorvida pela amostra; e espectroscopia de espalhamento ou de dispersão que determina a quantidade da energia espalhada ou dispersada em função de parâmetros tais como o comprimento de onda, ângulo de incidência e o ângulo de polarização da radiação incidente.

8.1.2 Instrumentação

Geralmente os equipamentos destinados à análise da radiação das ondas eletromagnéticas, incluindo-se a luz visível, são os espectrômetros, ou espectroscópios e, por isso, servem para a análise físico-química, processo este conhecido como espectroscopia. Os espectrômetros compreendem uma fonte de energia radiante, um sistema colimador (fenda, lentes...), um local destinado à amostra, um sistema monocromador e um sistema detector. É comum tratar de forma geral os instrumentos congêneres com o termo espectrofotômetro. Contudo, a designação "espectrofotômetro" encerra o sentido de ser um espectrômetro dedicado à utilização com a radiação na faixa da luz visível, isto é, entre o ultravioleta e o infravermelho. Assim, como já mencionado, existem espectrofotômetros UV-visível, de infravermelho e de fluorescência (chamados também fluorímetros).

Os equipamentos de espectroscopia de forma geral compreendem as seguintes partes: fontes de radiação, tais como lâmpada UV, Fonte de IR, luz Síncrotron; colimadores; recipientes para amostras; monocromadores, como prismas e redes de difração; detectores/transdutores, como fotodiodos, fotomultiplicador, CCD; e Processador de sinais e de dados.

8.1.3 Cobertura espectral

É definida como a abrangência de uma faixa de comprimentos de onda de um determinado espectro. Uma cobertura espectral pode ser uma região extensa ou estreita, isto é, para cobrir toda a parte do visível do espectro a cobertura espectral será de (400-800)nm ou arbitrariamente a cobertura espectral poderá, por exemplo, ser (200-400)nm, (175-190)nm, (1.0-4.1) μ m, (10-40eV), etc.

8.1.4 Sensibilidade

É a capacidade do instrumento de medir ou detectar uma quantidade mínima de amostra, isto é, mais ou menos moléculas do soluto na solução ou da própria amostra.

8.1.5 Lei de Lambert-Beer

A lei de Lambert-Beer, também conhecida como lei de Beer-Lambert, Lei de Beer ou ainda lei de Beer-Lambert-Bouguer, relaciona a absorção da radiação eletromagnética em geral com as propriedades do material o qual a luz atravessa. Esta lei descreve uma dependência logarítmica entre a transmissão ou transmissividade, **T**, da luz que atravessa uma substância e o produto entre o coeficiente de absorção da substância, **α** , a distância que a luz percorre dentro de substância, ou seja, o caminho percorrido, **ℓ** . O coeficiente de absorção pode ser escrito como um produto entre uma grandeza chamada de absortividade molar dos absorvedores, **ϵ** , e a concentração, **c**. A absortividade molar está associada com as transições eletrônicas, rotacionais ou vibracionais de cada espécie considerada, podendo ser considerada como uma identidade particular de cada espécie química. O coeficiente de absorção pode ser definido também como um produto entre uma seção de choque de absorção, **σ** , e a densidade numérica **N** dos absorvedores. Estas relações podem ser analiticamente expressas para líquidos como

$$T = \frac{I}{I_o} = 10^{-\alpha \ell} = 10^{-\epsilon \ell c} \quad \text{Eq.8.1.5- 1}$$

e, para gases e sólidos, também podem ser escritas como

$$T = \frac{I}{I_0} = 10^{-\ell\alpha'} = 10^{-\sigma\ell N} \quad \text{Eq.8.1.5- 2}$$

onde I_0 e I representam a intensidade da radiação incidente e transmitida, respectivamente. σ é a seção de choque de absorção da luz por uma única molécula ou partícula e N é a densidade numérica de partículas por unidade de volume de absorvedores. A diferença entre a utilização de logaritmos na base 10 ou base e é meramente convencional, exigindo a multiplicação de uma constante para converter uma na outra. A Figura 8.1.5- 1 esquematiza uma amostra numa cubeta para análise.

Figura 8.1.5- 1: Esquema de uma cubeta que contém uma amostra líquida (ϵ, ℓ, c), http://wikiciencias.casadasciencias.org/wiki/images/7/7a/Beer_lambert.jpg-15SET15_16:55hs.

A absorvância pode ser expressa em termos da transmissão ou transmissividade, para líquidos, na forma:

$$A = -\log_{10} \left(\frac{I}{I_0} \right) = -\log_{10} T \quad \text{Eq.8.1.5- 3}$$

e para gases e sólidos, na forma:

$$A' = -\ln \left(\frac{I}{I_0} \right) = -\ln T \quad \text{Eq.8.1.5- 4}$$

Este fato determina que a absorvência varia linearmente com a concentração da amostra quando se tratar de líquidos ou densidade numérica de absorvedores quando se tratar de gases ou sólidos, conforme as relações que seguem

$$A = \varepsilon \ell c = \alpha \ell \quad \text{Eq.8.1.5- 5}$$

que é a Lei de Beer na sua forma mais usual, ou

$$A' = \sigma \ell c = \alpha' \ell \quad \text{Eq.8.1.5- 6}$$

Assim, sendo o comprimento ℓ e a absorvência molar ε conhecidos, a absorvência pode ser medida e a concentração da substância, c , pode ser deduzida. Da mesma forma, sendo o comprimento ℓ e a seção de choque de absorção σ conhecidos, a absorvência pode ser medida e o número de absorvedores, N , pode ser deduzido, respectivamente para os líquidos e para os gases ou sólidos.

Se a concentração, c , é expressa em termos da fração molar, isto é, um fração dimensional, a absorvência molar, ε , assume a mesma dimensão do coeficiente de absorção, ou seja, 1/m. Entretanto, se a concentração for expressa em moles por unidade de volume, a absorvência molar ε , será expressa por $\text{cm}^{-1} \text{Lmol}^{-1}$ ou m^2/mol no S.I.

Sinteticamente, temos

$$T = \frac{I}{I_0} = e^{-\sigma \ell N} = e^{-\alpha' \ell} \quad \text{Eq.8.1.5- 7}$$

$$A = -\log_{10} \left(\frac{I}{I_0} \right) = \frac{\alpha' \ell}{2.30} = \alpha \ell = \varepsilon \ell c \quad \text{Eq.8.1.5- 8}$$

$$A' = -\ln \left(\frac{I}{I_0} \right) = \alpha' \ell = \sigma \ell N \quad \text{Eq.8.1.5- 9}$$

As equações a seguir mostram como relacionar Absorvência com a Transmitância:

$$A = \log_{10} \frac{1}{T} \quad \text{Eq.8.1.5- 10}$$

$$A = \log_{10} \frac{100}{T(\%)} \quad \text{Eq.8.1.5- 11}$$

$$A = 2 - \log_{10} T(\%) \quad \text{Eq.8.1.5- 12}$$

8.1.6 Desvios da Lei de Lambert-Beer:

É importante mencionar que a lei de Lambert-Beer se aplica diante das seguintes considerações: a radiação incidente deve ser monocromática, isto é, possuir somente um λ ; e os centros absorventes devem atuar independentemente uns dos outros no processo de absorção. Também é necessário destacar que quanto maior o ϵ mais precisa será a determinação, o que significa dizer que o λ mais adequado para a determinação da concentração de um cromóforo através da lei de Lambert-Beer é aquele que corresponde a absorbância mais intensa, ou seja, o pico de absorbância.

Para se obedecer as ditas considerações do parágrafo anterior, a estratégia deve ser trabalhar com concentrações muito pequenas. Em termos práticos, as concentrações limites para a validade desta lei situam-se na faixa de 10^{-2} M para a maioria dos compostos. Até estas concentrações as moléculas, centros absorventes, interagem predominantemente com o solvente. Em concentrações superiores, acentuam-se as interações também entre as moléculas do soluto, os cromóforo, fazendo com que o ϵ e o λ de certos picos de absorbância sejam alterados no chamado deslocamento para o azul ou vermelho.

Outra fonte de erro pode ser o índice de refração, que pode aumentar significativamente em soluções concentradas, desviando parte da luz e diminuindo a intensidade detectada.

O equipamento de detecção também pode representar uma fonte de erro, principalmente em concentrações muito baixas ou muito elevadas, nas quais a intensidade de luz transmitida é muito próxima ou muito distante, respectivamente, da intensidade do feixe que não passa pela amostra, fazendo com que as comparações se tornem muito menos precisas.

9 Microssistemas para Análise de Fluidos Biológicos com FIV e os resultados do EspectroLab

Além dos resultados apresentados, é possível também medir a irradiância incidente em cada *pixel* do PDA como uma função da tensão de saída do amplificador de carga associado a este *pixel*, pode-se explorar a possibilidade do emprego deste tipo de detector, entre uma ampla gama de aplicações, também na construção de radiômetros espectrais para aplicações em diversas áreas de pesquisa científica e técnica, por exemplo, no campo clínico biomédico, na avaliação da eficácia do tratamento da hiperbilirrubinemia neonatal [Ferreira, A. et Al.] e no campo da biologia, na avaliação da influencia da irradiância e do nitrogênio na fotossíntese.

Deste trabalho é possível inferir que a técnica em pauta possibilita a obtenção de filtros de banda passantes linearmente variáveis dentro da faixa de 300 nm a $14\text{ }\mu\text{m}$ envolvendo em parte o espectro ultravioleta (UV), todo o espectro visível e parte do espectro infravermelho (IV). Radiômetros espectrais em determinadas bandas nestas faixas são de grande interesse em avaliações da atmosfera e na obtenção de dados para alimentar modelos atmosféricos que permitem a formação de cenários analíticos como também em análise química e biológica. Também destaca-se outras possibilidades potenciais como em um sistemas de imageamento multiespectral, hiperespectral e ultraespectral que pode ser acoplado a um sistema de microscópio eletrônico a ser calibrado conforme a Figura 9- 1, ou acoplado ao um sistema telescópio eletrônico e ser utilizado conforme a Figura 10- 1, página 10—156.

Figura 9- 1: Esquema de calibração do sistema FIV hiperespectral.

Uma rápida prospecção das possibilidade de emprego do FIV, apresenta uma representação pictórica de imagens colorizadas hiperespectrais de fluorescência como é

representado pela Figura 9- 2, a) Imagens de campo claro de fluorescência em 510 e 560 nm de três células HL60. As cores são artefatos ajustados conforme os comprimentos de ondas correspondente e seus respectivos espectros de emissão para as três células e b) Espectros em relação às duas regiões indicadas.

Figura 9- 2: Representação pictórica de imagens colorizadas hiperespectrais de fluorescência. a) Campo claro de fluorescência em 510 e 560 nm de três células HL60. As cores são artefatos ajustados conforme os comprimentos de ondas corresponde e seus respectivos espectros de emissão para as três células e b) Representação da imagem e espectros em relação às duas regiões indicadas (DOI:10.1364/BOE.4.001486).

Por outro lado, um sistema monolítico *chip-on-sized* baseado em ressonância plasmônica de superfície (SPR) é representado na Figura 9- 3. O dispositivo consiste de uma matriz de fotodiodos (PDA) coberta por um FIV sobreposta a uma película fina nanoestruturada de ouro modificada de forma a constituir uma rede periódica na ordem do comprimento de onda da luz incidente obtendo a transmissão óptica extraordinária (EOT- *Extraordinary optical transmission*) fenômeno observado por Ebbesen [et al.]. A proposta é que o dispositivo efetue medições em tempo real do comprimento de onda ressonante de transmissão óptica que é melhorada devido ao plasma ressonante de superfície influenciado pela presença de substâncias químicas e biológicas na superfície sensível do dispositivo.

Figura 9- 3: Diagrama esquemático de um dispositivo Plasmônico baseado em FIV sobre película nanoestruturada em Au.

Explorando as características do detector formado pelo FIV, que é dotado de um grande campo de visão FOV (*Field of view*), naturalmente possui a vocação para aplicações de medições em fluxo, conforme o esquema da Figura 9- 4.

Figura 9- 4: Diagrama esquemático do funcionamento de um dispositivo de análise em fluxo.

Basicamente se pretende obter informações correspondentes a processos espectrofotométricos de determinadas moléculas de acordo com os canais espectrais disponíveis, conhecendo-se as diferenças na intensidade da radiação relativamente a mudança na concentração ou na formação de complexos utilizando-se de modelos específicos de tratamento destes dados. Dessa forma, com a viabilidade deste dispositivo, pretende-se demonstrar a possibilidade da construção de uma instrumentação para essas aplicações baseada neste novo conceito do filtro de interferência variável que pode oferecer alta resolução espectral.

Um protótipo capaz de analisar fluidos biológicos, incluindo-se a urina humana, foi desenvolvido e poderá ser confrontado com os resultados obtidos pelos equipamentos já homologados e de uso consagrado e corrente.

Assim, este capítulo retoma a descrição do conjunto detector, mencionado nas pags. 21 e 44, antes formado apenas por um FIV e um sensor constituído de uma matriz de fotodiodos ou CCD, agora é acrescido de um sistema de canais de microfluidos, além de um módulo eletrônico de leitura, armazenamento e comunicação, Figura 9- 5. Este novo conjunto forma um microssistema para análise de fluidos biológicos de potencial *chip-sized* com a característica fundamental de poder efetuar medições com um analito em movimento, característica esta que diferencia esta plataforma de sensores plasmônicos onde há a necessidade da imobilização do analito para realizar as medições.

Figura 9- 5: Diagrama esquemático básico do dispositivo EspectroLab baseado no FIV.

O módulo eletrônico possui uma interface de comunicação de forma que, através dela, é possível descarregar os dados adquiridos para serem processados e/ou receber parâmetros de

controle de um computador com maior capacidade de processamento de acordo com o diagrama funcional da Figura 9- 6.

Figura 9- 6: Diagrama Funcional de funcionamento do Dispositivo EspectroLab.

9.1 O Detector

O detector espectrofotométrico e/ou espectralradiométrico proposto (pgs.26 e 43) é baseado numa matriz de fotodiodos (PDA) de silício de N elementos e em um filtro de interferência variável (FIV), obtido no capítulo 5, de faixa espectral de λ_1 a λ_2 nm. O FIV converte a distribuição espectral da luz incidente em uma distribuição espacial e tem um gradiente espectral determinado pelos extremos espectrais e seu comprimento L de aproximadamente $(\lambda_2 - \lambda_1)/L$ [nm/mm]. Ver esquemas pictóricos, Figura 9- 7 e Figura 9- 8.

Figura 9- 7: Esquema do detector chip-sized.

Figura 9- 8: Esquema do Conjunto Detector.

A luz incidente na superfície do FIV é transmitida com seletividade em termos do comprimento de onda e é convertida em sinais elétricos pelos fotodetectores do PDA nas

posições correspondentes que pode fornecer uma avaliação da irradiância incidente em cada fotodetector.

Resumidamente, o FIV é constituído de uma estrutura Fabry-Perot não paralela, formando uma cavidade in-homogênea inclinada linearmente. A estrutura do filtro é formada por dois refletores de Bragg (DBR) e uma cavidade inclinada. Conforme descrito em detalhes no capítulo 4 e 5, a espessura da cavidade numa dada posição, $l(x)$, do filtro determina o comprimento de onda λ_x que é transmitido pela estrutura, dependendo do índice de refração da cavidade n_c (assumido constante). Isto posto, podemos abordar alguns aspectos acerca da sensibilidade do detector espectral implementado pelo FIV. A discussão sobre a sensibilidade e a faixa espectral do detector é influenciada por diversos fatores. Numa análise inicial, é suposto que o detector é iluminado homogeneamente, isto é, cada posição do FIV deve receber a mesma intensidade de luz. Contudo, podemos ver como representado na Figura 9- 9 que pode ocorrer um deslocamento ($x_{desl} = h \cdot \tan(\theta)$) devido ao ângulo de incidência (θ) e a distância (h) entre o FIV e o PDA.

Figura 9- 9: Deslocamento devido a iluminação não homogênea de incidência oblíqua.

Esta tese destaca a extraordinária resolução espectral atingida pelo conjunto detector proposto e representado na Figura 9- 9, quando o mesmo incorpora um difusor hemisférico, com a função de espalhar a luz incidente em todas as direções (superfície lambertiana); um orifício de entrada da radiação, que representa uma fonte pontual; uma lente convergente em cuja distância focal se localiza a fonte de radiação pontual. O difusor, o orifício e a lente

convergente integram um sistema óptico de aproximação de campo distante em relação ao detector, devidamente apropriados de forma a iluminar com feixes luminosos paralelos homogeneamente distribuídos em toda a extensão do PDA/CCD. Conforme está esquematizado na Figura 9- 9, o deslocamento devido a iluminação não homogênea de incidência oblíqua é a principal fonte de erro na detecção do comprimento de onda e o aparato proposta é a solução para minimizar estes efeitos. Ademais, um filtro banda larga, para suprimir as ordens laterais, pode ser indicado.

9.2 O Sensor

O sensor utilizado preliminarmente na pré-avaliação do filtro de interferência variável (FIV) consiste em um PDA com 1280 fotodiodos arranjados em duas secções de 640 fotodiodos alinhados continuamente em uma disposição linear, cada um deles está associado a um circuito amplificador de carga e a um circuito lógico de multiplexação para prover a leitura de cada *pixel*. As dimensões relacionadas a cada foto-elemento (*pixel*) são $63,5\mu m$ por $55,5\mu m$ com espaçamento de $63,5\mu m$ de centro a centro e $8\mu m$ de espaçamento entre *pixels*. A lógica interna de multiplexação e de controle é simplificada utilizando um simples sinal de “clock” e um sinal de inicialização (*serial-input*) e pode operar e até $8MHz$ (TSL1410R TAOSinc) Figura 9.2- 1 [98].

Figura 9.2- 1: Fotografia do dispositivo TSL1410R (1280x1 pixels).

Esta avaliação consiste na necessidade, devido o uso de lâminas grandes como substrato, de fazer uma localização prévia da banda espectral de interesse para proceder a posterior caracterização.

O sensor utilizado preliminarmente em um protótipo do dispositivo detector descrito consiste em um PDA com 128 fotodiodos (TSL1401R TAOSinc) com as mesmas

características dimensionais dos *pixels* e do sistema lógico de controle do dispositivo descrito anteriormente Figura 9.2- 2 [98].

Figura 9.2- 2: Fotografia dos dispositivos: TSL1401R (128x1 pixels) da esquerda e LFL1402(256x1 pixels) da direita.

Uma breve descrição funcional dos PDA's utilizados é feita com o esquema da Figura 9.2- 3 e vale para os sensores testados (TSL1401R, TSL1410R, TSL1402, LFL1401, LFL1402) ressaltando-se as diferenças do número de *pixels* . A energia da luz incidente em um determinado fotodiodo gera uma foto-corrente, que é integrada pelo circuito correspondente associado a esse *pixel*.

Figura 9.2- 3: Diagrama funcional reproduzido do respectivo datasheet (Texas Advanced Optoelectronic Solutions Inc-TAOSinc)[99].

Durante o período de integração, um capacitor de amostragem é conectado à saída do integrador analógico através de uma chave analógica. A carga acumulada em cada *pixel* é diretamente proporcional à intensidade luminosa e ao tempo de integração.

A saída e o *reset* dos integradores são controlados por um registrador de deslocamento (*shift register*) de 128 *bits* e uma lógica de *reset*. Um ciclo de saída é iniciado com um sinal no terminal *Start Integration* (SI), visto na parte superior da tela do osciloscópio mostrada na Figura 9.2- 4. Para o funcionamento adequado, após ser mantido ativo por um tempo mínimo, o SI deve ser desativado antes de iniciar um novo ciclo. Um sinal interno, chamado *Hold*, é gerado a partir da borda de subida SI e transmitido para as chaves analógicas dos circuitos de cada *pixel*. Isto faz com que todos os 128 capacitores de amostragem sejam desconectado de seus respectivos integradores e inicia-se um período de *reset* dos integradores.

O pulso SI é “cronometrado” pelo registrador de deslocamento e a carga armazenada nos capacitores de amostragem é acoplada sequencialmente em cada um dos 128 impulsos no terminal “CLK” necessários para a varredura do PDA (parte inferior da Figura 9.2- 5), em um amplificador que gera uma tensão na saída análoga no terminal *Analog Output* (AO) e o sinal de entrada SI poderá habilitar um novo ciclo depois de completado estes eventos e, simultaneamente, durante os primeiros 18 ciclos de *clock*, todos os integradores de *pixels* são restaurados, assim o próximo ciclo de integração começa no centésimo vigésimo nono (129º) pulso de *clock*, visto na Figura 9.2- 5. Na borda de subida do 129º pulso de *clock*, o registrador de deslocamento impõe à saída analógica AO um estado de alta impedância. O 129º pulso de *clock* é necessário para encerrar o ciclo após o 128º *pixel* e para a reconstituição da lógica interna.

Figura 9.2- 4 - Foto do monitoramento do sinal SI e Clock da implementação

Figura 9.2- 5 - Foto do monitoramento do sinal do 129º, do 257º ou do 1281º impulso.

O amplificador de corrente de saída não requer um resistor (*pull down*) externo na saída. Com $V_{DD} = 5V$, a saída nominal correspondente a nenhuma luz na entrada é 0V, a saída correspondente a um nível de luz de entrada de saturação é 4,8 V. A saída

correspondente ao estado em que o dispositivo não está na fase de saída, é um estado de alta impedância.

A tensão na saída analógica (AO) é dada por [99]:

$$V_s = V_{esc} + (R_e)(E_e)(t_{int}) \quad \text{Eq.9.2- 1}$$

sendo:

V_s Tensão analógica na saída

V_{esc} Tensão analógica na saída correspondente a condição “escura” (sem nenhuma luz)

R_e Responsividade do PDA para um correspondente comprimento de onda dado em $V/(\mu J/cm^2)$.

E_e Irradiância incidente em $(\mu W/cm^2)$

t_{int} Tempo de integração em segundos.

Figura 9.2- 6: Responsividade espectral dos fotodiodos - reproduzido do datasheet (Texas Advanced Optoelectronic Solutions Inc.). Reproduzido de [99].

A responsividade relativa em função do comprimento de ondas dos fotodiodos pode ser obtida a partir da Figura 9.2- 6 obtida do “datasheet” do PDA.

9.3 Módulos Eletrônicos

Diversos módulos podem ser utilizados na implementação do detector de acordo com as necessidades do projeto, conforme ilustrado no esquema funcional Figura 9.3- 1, no caso deste trabalho tornou-se oportuna a disponibilidade de dois módulos independentes para desenvolvimento: o módulo microprocessador MSC1211-Y5, *Complex Instruction Set Computer* – CISC e o módulo Arduino UNO, Atmega328P, *Reduced Instruction Set Computer* – RISC, são mostrados na Figura 9.3- 2.

Figura 9.3- 1: Diagrama de blocos do funcionamento dos módulos eletrônicos de avaliação e performático.

O emprego dos dois módulos está associado à conveniência de pré-avaliar o filtro FIV, utilizando-se o próprio sensor do detector, para localizar a banda de interesse nos substratos de grandes dimensões utilizados neste trabalho para posterior caracterização. Esta providência minimiza os recursos e o uso da instrumentação de laboratório. Todavia, se prevê a necessidade de desenvolver instrumentação específica para esse fim, já que a peculiaridade da transmitância espectral do filtro que varia ao longo de seu comprimento, demanda a necessidade de um sistema de coordenadas móvel com resolução da ordem de dezenas de micrometros e de um espectrofotômetro com um *spot* de iluminação da ordem de 100 micrometros. Então, foi dedicada ao módulo Arduino, que possui um conjunto de instrução mais compacto e pode ser programado com maior facilidade, a tarefa de avaliar as características do FIV e, dedicada ao módulo MSC1211Y5, que possui um conjunto de instruções mais extenso e uma sistemática de programação mais complexa, a tarefa de adquirir os dados espectrais e de coleta de interesse da aplicação.

Figura 9.3- 2: Módulo eletrônico principal com o MSC1211, a esquerda, e Arduino UNO, a direita.

Os membros da família MSC121x de microcontroladores usam um núcleo de instruções compatível com o mais difundido 8051. Todos os códigos de instrução têm os mesmos padrões binários e produzem exatamente as mesmas funções lógicas. Entretanto, o MSC121x é aproximadamente três vezes mais rápido na execução para a mesma frequência de *clock*, isto porque, ao invés de 12 pulsos de *clock* por ciclo de instrução, o MSC121x usa quatro. Assim, ele pode manter uma mesma velocidade de processamento trabalhando com um *clock* mais baixo determinando uma menor dissipação de energia e produzindo menor ruído. Adicionalmente, a ferramenta de software livre SDCC (*Small Device C Compiler*), pode ser utilizada diretamente para desenvolver programas para o MSC1211.

O MSC1211 possui funções analógicas avançadas e seu sistema ADC (*Analog Digital Converter*) e cumpre as mais estritas exigências para instrumentação analógica, integrando um amplificador de ganho programável (PGA) que atribui ao ADC resolução de nanovolt. O MSC1211 incorpora também um filtro programável, um multiplexador analógico e um sensor de temperatura.

9.4 Ensaios preliminares - Protótipo

Um protótipo preliminar foi construído baseado nas diretrizes propostas no escopo deste trabalho, a Figura 9.4- 1 mostra o detector formado pelo filtro FIV montado sobre o PDA (detector *chip-sized*) e um circuito de processamento, dispostos sob uma lente convergente, formando a base do módulo detector.

Figura 9.4- 1: a) Detector formado pelo filtro FIV montado sobre um PDA; b, c) Aspectos de Dispositivo Spectrolab; d e e) Setup do Spectrolab.

O conjunto detector proposto desenvolvido ao longo deste trabalho (pgs. 26, 43, 137) é capaz de avaliar o espectro de uma fonte de radiação na banda de cobertura do mesmo, conforme foi demonstrado na Figura 7- 12.

Figura 9.4- 2: Canais de microfluídica utilizados: a) Em vidro, 1mm; b) PDMS, 75um e 200 um.

A configuração composta pelos sensores utilizados (PDA ou CCD) (Figura 9.2- 2), pelos módulos eletrônicos empregados (Figura 9.4- 2), pelo sistema de canais de microfluido utilizados (Figura 9.4- 2) e pelo software de aquisição de dados dedicado, constituem um protótipo, evoluído das formas básicas apresentadas nas páginas 26 e 43, do dispositivo detector espectral para sensor biológico e químico (EspectroLab) esquematizado na Figura 9.4- 3, , como segue:

Figura 9.4- 3: Esquema do EspectroLab.

Considerando o conjunto FIV e PDA e os dados apresentados, espera-se que a resolução deste detector para uma dada radiação seja menor que 0,40 nm. Utilizando o protótipo do Dispositivo Multiespectral formado pelo módulo detector, com o filtro FIV2670-1 e o PDA TSL1401 juntamente com o módulo eletrônico, procedeu-se uma avaliação do espectro de um fotodiodo laser de fabricação desconhecida, tipo diodo laser de injeção direta, alimentado com uma fonte de tensão ajustável em 4,80 Volts e capacitor de filtragem de 66.000 μ F.

Figura 9.4- 4: a) Uma varredura do PDA correspondente a uma avaliação do espectro de um fotodiodo laser, b) Detalhe da definição de um Pixel.

Medições instantâneas parciais são apresentadas nas telas do osciloscópio mostradas na Figura 9.4- 4.

Uma sequência de dados correspondente a radiação emitida pelo fotodiodo descrito e incidente no detector foi adquirida pelo módulo eletrônico conforme as diretivas do software e transferida a um PC (*personal computer*), onde se realizou o tratamento deste conjunto de dados. O resultado é mostrado na Figura 9.4- 5.

Figura 9.4- 5: Espectro do diodo laser obtido com o protótipo EspectroLab.

Apenas para simples referência, uma avaliação do mesmo diodo laser foi realizada com espectrofotômetro modelo USB2000 da OceanOptics e apresentado na Figura 9.4- 6.

Figura 9.4- 6: Espectro de um diodo laser realizada com espectrofotômetro modelo USB4000 da OceanOptics, pico do comprimento de onda 655,57 nm e largura a meia altura de 2,0 nm.

Como é possível observar, o espectro da Figura 9.4- 5 mostra que o dispositivo é capaz de realizar as medidas pretendidas. Salienta-se que estas medições apresentadas são orientativas, sendo necessária a submissão do protótipo em pauta a uma sistemática de calibração contra uma fonte de radiação certificada e rastreada para a sua perfeita caracterização em conformidade com os requisitos das aplicações sugeridas na introdução deste trabalho.

A compostura física do equipamento protótipo que utiliza o EspectroLab, Figura 9.4- 7, apresenta-se numa escala de 6,5 vezes maior que o necessário para facilitar ao máximo as investigações, os ajustes e os refinamentos possíveis nesta fase de desenvolvimento. Porém, as dimensões relevantes para as medições, tais como as áreas ativas do CCD, do FIV e de detecção dos microcanais, foram estabelecidas e mantidas como definitivas. Os microcanais fabricados em diversas profundidades têm como objetivo identificar dinamicamente os regimes de escoamento para as diversas concentrações e, como é de praxe realizar a verificação da linearidade metodológica e fotométrica periodicamente, determinando-se os valores máximos e mínimos de concentração para se manter a linearidade, assim como se deve estabelecer os volumes máximos e mínimos das amostras a serem analisadas.

Figura 9.4- 7: a) Foto montagem do detector EspectroLab, versão de três áreas de detecção sem o FIV; b) Foto montagem do detector EspectroLab, versão com área de detecção única (TLS1401-OEM) sem o FIV; c) Foto montagem do detector EspectroLab, versão de três áreas de detecção com o FIV; d) Foto montagem do detector EspectroLab, versão de uma área de detecção única (TSL1401-DIP8) com FIV.

9.4.1 Procedimento para realização de um ensaio comparativo

O emprego mais simples do EspectroLab é a determinação do espectro de absorção de soluções aquosas. Um ensaio para comparar sistemáticas e resultados com metodologias convencionais pode ser realizada. Para cada uma das solução a serem analisadas pode-se fazer as seguintes considerações:

a) Alguns espectrofotômetros permitem medir ao mesmo tempo a absorbância de duas cubetas, uma delas com o intuito de calibração, pois antes das medições das soluções deve-se calibrar o sistema, isto é, definir o ponto zero da absorbância. No caso do EspectroLab pode-se introduzir na entrada n.1 do microcanal apenas água destilada ou o solvente utilizado e, na entrada n.2, o soluto. Outros espectrofotômetros necessitam que se meça a absorbância do solvente puro previamente ou posteriormente à medição da absorbância da solução a ser estudada, esta sequência acontece no caso do EspectroLab quando se usa um microcanal de câmara de detecção única, mas há a opção do uso de microcanais de compartimentos múltiplos e separados, conforme a Figura 9.4- 2 da página 9—146. Por fim, a absorbância corrigida da solução é obtida por:

$$A_c = A_{\text{solução}} - A_{\text{solvente}} \quad \text{Eq.9.4.1- 1}$$

Com esse procedimentos se subtraí os efeitos da absorção da radiação pelo solvente e pelos materiais dos microcanais (vidro, PDMS, PDMA). O EspectroLab possui também a aptidão de armazenar informações da absorbância para calibrações internas de vários solventes mantendo-as para realizar esta etapa automaticamente. Quando a medição realizada for de transmitância percentual T(0-100%), o cálculo da absorbância será feita através da Eq.8.1.5- 12. Os cálculos sistemáticos poderão ser integrados ao Firmware do módulo de controle para aquisição e cálculos automáticos.

b) A partir de uma solução aquosa de estoque e de concentração conhecida pode ser pipetada é pipetado um pequeno volume (1 mL) e transferido para um balão volumétrico de (100 mL), que tem o seu volume completado com água destilada até o menisco, para se obter uma solução com uma diluição assim conhecida, esta solução deve então ser homogeneizada introduzida numa cubeta para análise em um espectrofotômetro convencional, ou em uma das entradas do EspectroLab, para ser analisada. Contudo, ensaios de fluxo contínuo podem ser procedidos quando se acoplam às suas entradas bombas micrométricas/nanométricas.

c) Em um espectrômetro convencional é necessário se completar uma tabela das absorvâncias medidas e absorvâncias corrigidas das soluções usando a Eq.9.4.1- 1, com isso se pode obter um gráfico exibindo a absorvância (A_c) em função do comprimento de onda, onde se pode verificar o comprimento de onda da absorvância máxima. Já no protótipo do EspectroLab a inserção da amostra já produz a tabela e o gráfico com degraus menores que 0,40 nm em toda a cobertura espectral, automaticamente.

De posse do valor do comprimento de onda na absorvância máxima da solução, podemos introduzir amostras de diferentes diluições e medir a absorvância neste canal espectral para então encontrar a curva analítica correspondente.

9.4.2 Ensaio de concentração de Azul de Metileno

Azul de metileno é um composto aromático heterocíclico, sólido de verde escuro que é solúvel em água e produz uma de solução azul, inodoro, com fórmula molecular: $C_{16}H_{18}ClN_3S$ e peso molecular 373,90 g/mol. Normalmente usado como corante e como indicador, o azul de metileno, tem muitas aplicações nos mais variados campos da biologia e da química. Há uma distinção entre este azul de metileno aqui tratado e o azul de metila, o novo azul de metileno, frequentemente usados como corante histológico e indicador de pH, respectivamente.

Para os fins propostos, o EspectroLab deve ser capaz de medir e avaliar a concentração de amostras de soluções diluídas de Azul de Metileno e fornecer uma curva analítica correspondente, assim segue:

- 1) Primeiramente, foi instalado no EspectroLab como fonte de iluminação um LED (L421HU-UOR-B da Cromatek);
- 2) Diluiu-se 3 mg do Azul de Metileno em 50 mL de água destilada, constituindo uma denominada solução padrão;
- 3) Pipetou-se 3 mL da solução padrão da solução de Azul de Metileno para um balão volumétrico de 50 ml e completou-se com água destilada até atingir o menisco;
- 4) Pipetou-se três amostras de teste a partir da solução obtida em 2 (2 mL em 1 mL de água destilada, 2 mL em 2 mL de água destilada e 2mL em 3 mL de água destilada);
- 5) Foi avaliada a banda de absorção e a faixa de sensibilidade das amostras (665 nm);
- 6) Separou-se uma amostra igual a terceira obtida em 4 (2 mL da solução obtida em 2 em 3 mL de água destilada);

7) Esta amostra alimentou um reservatório apropriado a canalizar o fluido ao sistema de microcanais do EspectroLab, onde se realizou sucessivas leituras da absorbância da amostra analisada;

8) Usando uma pipeta automática e fixa de 2 μL foi adicionado este volume da solução obtida em 3 no volume do reservatório e foram realizadas novas aquisições;

9) Sucessivamente foi repetida a sistemática descrita em 8.

Tabela 9.4.2- 1: Absorbância correspondente a concentração da amostra.

Amostra	Concentração (ng/mL)	Absorbância
1	24,00000	0,15287
2	24,00799	0,15292
3	24,01598	0,15298
4	24,02395	0,15302
5	24,03191	0,15309
6	24,03987	0,15312
7	24,04781	0,15319
8	24,05574	0,15323
9	24,06366	0,15329
10	24,07157	0,15332

A Tabela 9.4.2- 1 apresenta os dados obtidos e a Figura 9.4.2- 1 a curva analítica correspondente , como segue:

Figura 9.4.2- 1: Curva analítica para amostras do azul de metileno.

O coeficiente de absorvidade molar ϵ calculado para a amostra do Azul de metileno, em torno de 665 nm e $L_p=200$ (2) μm é de **8,55 (0,50). $10^4 \text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$** .

9.4.3 Ensaio da dosagem de Ácido Úrico na urina no EspectroLab

A determinação do ácido úrico em amostras de sangue, urina e outros líquidos biológicos é útil na avaliação do metabolismo da purina, adenosina e guanosina e encontra-se alterada em diversas condições clínico patológicas além da gota.

Inúmeras biomoléculas com interesse para análise não possuem cromóforos que absorvem luz no visível. Assim, tais moléculas não estão predispostas a serem diretamente analisadas pela técnica da espectrofotometria para determinar suas concentração numa dada amostra. Porém, uma série de reações químicas específicas, conhecidas como reações colorimétricas, podem transformar essas biomoléculas em produtos detectáveis e a sua absorbância se encontra na gama do visível.

Segundo o princípio da colorimetria, essas reações precisam ser específicas, rápidas, reprodutíveis e corresponder a um valor de absorbância estável ao menos durante um determinado período de tempo. Na análise colorimétrica ideal, o valor da absorbância da mistura é proporcional à concentração da biomolécula. Onde a mistura é o produto obtido após misturar um determinado reagente na amostra que contém a biomolécula a analisar.

As reações para a determinação do ácido úrico são as seguintes:

Uricase

Peroxidase

A intensidade da cor vermelha formada é diretamente proporcional à concentração do ácido úrico na amostra.

$$\text{Ácido úrico} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dL}} \right) = \frac{\text{Absorbância do teste}}{\text{Absorbância do padrão}} \cdot 6 \quad \text{Eq. 9.4.2- 1}$$

Devido a grande reprodutibilidade que pode ser obtida com a metodologia, pode-se utilizar o fator:

$$\text{Fator de calibração} = \frac{6}{\text{Absorbância do padrão}} \quad \text{Eq. 9.4.2- 2}$$

onde,

$$\text{Ácido úrico} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dL}} \right) = \text{Absorbância do teste} \cdot \text{volume urinário (mL)} \quad \text{Eq. 9.4.2- 3}$$

e

$$\text{Urina} \left(\frac{\text{mg}}{24\text{h}} \right) = \frac{\text{Ácido úrico} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dL}} \right) \cdot \text{volume urinário (mL)}}{100} \quad \text{Eq. 9.4.2- 4}$$

Assim, em conformidade com os procedimentos descritos no Apêndice B, foram preparados os reagentes e também a amostra que foi então analisada no EspectroLab provido com o FIV3670-2, produzindo os resultados listados na Tabela 9.4.2- 2: e representados graficamente na Figura 9.4.3- 1

Tabela 9.4.2- 2: Dados brutos de Absorbância das amostras padrão e do teste de ácido úrico.

Comprimento de Onda (nm)	Absorbância (padrão)	Absorbância Ác. Úrico
508,12	0,590	0,590
507,73	0,600	0,600
507,34	0,600	0,600
506,95	0,590	0,590
506,56	0,580	0,580
506,17	0,600	0,600
505,78	0,540	0,540
505,39	0,600	0,600
505,00	0,703	0,612
504,61	0,560	0,560
504,22	0,540	0,540
503,83	0,490	0,490
503,44	0,510	0,510
503,05	0,480	0,480
502,66	0,480	0,480
502,27	0,420	0,420
501,88	0,450	0,450
501,49	0,470	0,470

Analisando as informações obtidas, para a medição da absorbância da amostra padrão, temos $0,703 - 0,540 = 0,163$; para a medição da absorbância da amostra em teste, temos $0,612 - 0,540 = 0,072$ e usando a fórmula Eq. 9.4.2- 1, obtemos o valor do Ácido úrico (mg/dL) = 2,650 e pela Eq. 9.4.2- 4, multiplicando pelo fator 10 devido a diluição, temos o valor do Ácido úrico (mg/24h) = 540,66 ou (g/24h) = 0,5407.

Figura 9.4.3- 1: Dados graficados adquiridos no EspectroLab para teste de exame ácido úrico na urina.

Também a mesma amostra foi analisada em um laboratório de análises clínicas de reconhecida confiabilidade onde se obteve o valor do Ácido úrico (mg/24h) = 0,53 (Apendice C).

De posse dos resultados alcançados pelo protótipo do EspectroLab, composto pelo detector espectral baseado no FIV, é possível afirmar que as resoluções, da detecção espectral e da intensidade da radiação incidente, bem como a sua boa estabilidade, são bastante satisfatórias e apresentam amplas perspectivas de serem incorporadas ao desenvolvimento de novos sistemas que pretendam atender aplicações extremamente exigentes.

Em síntese: o filtro de interferência variável (FIV) obtido neste trabalho está de acordo com o projeto e as simulações; o FIV obtido possui uma boa supressão de bandas laterais; o FIV em conjunto com um PDA foi capaz de avaliar o espectro de uma fonte de luz monocromática coerente (laser); e foi possível construir um protótipo nacional composto pelo FIV, PDA, conjunto eletrônico e software [102]

10 Conclusões

Avaliando os resultados obtidos, a partir dos objetivos iniciais e das possibilidades expressas ao longo da realização deste trabalho, foi constatado pleno êxito na obtenção do filtro de interferência variável, validando a técnica, o processo e o modelo proposto. Assim ficou demonstrada a obtenção do filtro de interferência variável (FIV) pelo método da introdução de uma máscara especialmente projetada para obliterar o jato de material evaporado [1].

Entre muitas diversas aplicações do FIV, algumas já comprovadas, estão a composição de novas câmeras multi e hiper espectrais, tanto para aplicações em escalas micrométricas em microscópios eletrônicos em biossensores, como em escalas kilométricas em geocâmeras espectrais [101], conforme esquematizado na Figura 10- 1, abaixo:

Figura 10- 1: Câmera Geoespectral [101].

Assim, todos os objetivos inicialmente propostos foram plenamente atingidos através do sucesso do desenvolvimento, obtenção, caracterização e validação do FIV, bem como do desenvolvimento, projeto e realização do detector espectral, além do protótipo do EspectroLab que demonstra o êxito da aplicação do FIV em detectores espectrais e em biossensores.

Ademais, à luz das possibilidades apontadas, é perfeitamente viável o efetivo emprego do arranjo proposto nas aplicações de análise de fluidos biológicos marcadamente quando apresenta a possibilidade de obtenção de faixas espectrais elegíveis para compor uma banda abrangente para atender uma ampla diversidade de ensaios que podem ser diretamente comparados com os dados obtidos por outros instrumentos concomitantemente, se vislumbra inclusive a possibilidade de desenvolver novos dispositivos a partir do arranjo em pauta e com resolução hiperespectral. Contudo, considerando o atendimento as especificações requisitadas por esses empregos, são necessários novos trabalhos e estudos complementares que objetivem estabelecer e aperfeiçoar metodologias de aferição e calibração das medidas espectrais e radiométricas.

10.1 Considerações Finais

Reiterando a atual profusão de trabalhos neste campo de pesquisa, nos vimos emulados a desenvolver este trabalho de pesquisa para destacar as possibilidades e as condições de um esforço na busca de alternativas, soluções e inovações que, dentro desta profusão de opções, permitam o surgimento de soluções nacionais para sistemas de detecção e sensores que atendam, ao menos em parte, as necessidades dos grupos de pesquisa brasileiros que atuam em programas científicos de relevância nesta área.

O maior problema enfrentado no que se refere à instrumentação, relaciona-se com a predominância estrangeira no fabrico e assistência técnica de manutenção de aparelhos de instrumentação. Fatores como a sofisticação, às vezes inadequadas em relação às nossas peculiaridades, padronização, especificação, exploração das capacidades da aparelhagem, “obsolescência planejada”, etc., no que diz respeito à aparelhagem importada; e, qualidade insatisfatória do similar nacional; constituem obstáculos no equacionamento do problema.

Assim, aspectos acadêmicos da formação do capital humano, essenciais para o desenvolvimento científico (KNOW WHY), e seu desdobramento no desenvolvimento tecnológico (KNOW HOW), se manifestam também na produção e acúmulo de iniciativas e alternativas de soluções na área sensível da instrumentação.

Referências Bibliográficas

- [1] SILVA, C. M., Filtro de interferência variável e descrição de uma aplicação: dispositivo multicanal espectral para análise ambiental, 2010. Dissertação (Mestrado em Microeletrônica) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.
- [2] WHELAN, D.R.[et al.] - Quantification of DNA in simple eukaryotic cells using Fourier transform infrared spectroscopy. *Biophotonics* 1–10 (2012) / DOI 10.1002/jbio.201200112
- [3] MALACARA, Z.- Handbook of Optical Design. Second Edition. Centro de Investigaciones en Optica, A.C.Ledn, 2004 by Marcel Dekker, Inc.
- [4] TORRERI, P., CECCARINI, M., MACIOCE, P., PETRUCCI, T.C. - Biomolecular interactions by Surface Plasmon Resonance technology. *Ann Ist Super Sanità*. 2005; 41(4):437-441.
- [5] AMRAM, Philippe; GEORGELIN, Yvon. A Taste of Fabry and Perot's Discoveries, In: *Physica Scripta*, Marseille, France Vol. T86, 76-82, 2000.
- [6] LEE, Mindy R.; FAUCHET, Philippe M. Two-dimensional silicon photonic crystal based biosensing platform for protein detection, *Opt. Express* 15, 4530-4535 (2007).
- [7] KURTA, H., CITRIN, D. S. - Coupled-resonator optical waveguides for biochemical sensing of nanoliter volumes of analyte in the terahertz region. *Applied physics letters* 87, 241119 2005.
- [8] HAGLMULLER, JAKOB et al, Nanocluster Optical Resonance Devices for Molecular Structure Transduction. *Current Nanoscience*, 2005, 1, 3-16 3 1573-4137/05.
- [9] DAVIS, Charles M.; ZAROBILA, Clarence J.. **Electro-optics handbook** - Chapter 21 fiber-optic sensors (www.digitalengineeringlibrary.com) Copyright © 2004 The McGraw-Hill Companies.
- [10] JOANNOPOULOS, John D.; et. al. **Photonic Crystals**, 2ed. Princeton: Princeton University Press, 2008.

- [11] HECH, Eugene. **Optics**. Third Edition. Reading, Massachusetts: Addison-Wesley, 1998.
- [12] KRASILNIKOVA, A. et. al.. Spatially resolved spectroscopy for non-uniform thin film coatings: comparison of two dedicated set-ups, **Proc. SPIE** 5965, 59651V (2005), DOI:10.1117/12.625183.
- [13] LOUISNNRSEN, S. John Measurement of refractive indices and their dispersion, **American Mineralogist**, Volume 63, pages 394400, 1978.
- [14] SHIMIDT, O., KIESEL P., MOHTA S., JOHMSON, N.M., Resolving pm wavelength shifts in optical sensing, **Applied Physics B**, Volume 86, , nº4, Abril de 2007, pp. 593-600(8).
- [15] SCHMIDT, Oliver. **Integration of chip-size wavelength detectors into optical sensing systems**, M. Sc. Dissertation, Universität Erlangen_Nürnberg, Germany, 2007.
- [16] DEVLIN, T. M. - Textbook of biochemistry with clinical correlations. John Wiley & Sons, 1997.
- [17] SUNHEIMER, R.;GRAVES, L.;STOCKWIN, W.- Clinical Laboratory Urinalysis and Body Fluids.,ISBN-10: 0132784041, ISBN-13: 97801327840479780132784047978 0132784696©2015, Prentice Hall, 352 pp, 2015 - (<http://www.pearsonhighered.com/educator/product/Clinical-Laboratory-Urinalysis-and-Body-Fluids/9780132784047.page#sthash.CSs2mYsU.dpuf>).
- [18] PINTO, H. C. [et. al.] - Técnicas Laboratoriais de Química. Texto Editora, Lisboa: 2003.
- [19] VOET, D.; VOET, J.G. - Bioquímica. tradução Ana Beatriz Gorini da Veiga...[et al.]. 3.ed. Artmed, Porto Alegre: 2006. cp 6.
- [20] BRUNZEL, N. A. - Fundamental of urine and body fluids analysis, Elsevier Ed. ISBN-10: 1437709893, ISBN-13: 978-1437709896, 2013.
- [21] JAMES, X.; ZHOU, Y. - Microfluidic Devices for Biomedical Applications. 1st Edition,eBook-ISBN:9780857097040,Print Book ISBN:9780857096975,Woodhead Publishing, 2013, 676 pgs.

- [22] ZHIRNOV, V.V.; CAVIN R.K. - Microsystems for Bioelectronics, 2nd Edition. eBook ISBN:9780323312691, Print Book ISBN:9780323313025, William Andrew Publishing, 2015.
- [23] Fair, R.B. - Digital microfluidics: is a true lab-on-a-chip possible?. Review Microfluid Nanofluid, 3:245-281(2007).
- [24] TUDOS, A., BESSELINK, G.a.j., SCHASFOORT, R.B.M. - Trends in miniaturized total analysis systems for point-of-care testing in clinical chemistry. Lab on a Chip 1, 83-95, 2001.
- [25] JAKEWAY, S. C.; de MELLO, A. J.; RUSSELL, E. L. - Miniaturized total analysis systems for biological analysis. Fresenius Analytical Chemistry. March 2000, Volume 366, Issue 6, pp 525-539.
- [26] MANZ, A.; GRABER, N.; WIDMER, H. M. - Miniaturized total chemical systems: a novel concept for chemical sensing. Sensors and Actuators, Vol. B1 (1990) p. 244-248. doi:10.1016/0925-4005(90)80209-I
- [27] FORET, F.; SMEJKAL P.; MACKA M.- Liquid Chromatography Fundamentals and Instrumentation, Chapter 20 – Miniaturization and Microfluidics, Edited by: Salvatore Fanali, Paul R. Haddad, Colin Poole, Peter Schoenmakers and David K. Lloyd, ISBN: 978-0-12-415807-8, 2013, Pages 453–467.
- [28] ZIMINA T. M.; LUCHININ V. V. - Microsystems for express analysis. Journal of Analytical Chemistry, December 2011, Volume 66, Issue 12, pp 1136-1158.
- [29] <http://www.di.unisa.it/~ads/BIOINFORMATICA/SequenziamentoDNA/microfabbrica ti.htm>
- [30] HALPERN, M. J.; QUINTAS, A.; Freire, A.P. - Bioquímica : organização molecular da vida. Editora Lidel, Lisboa, 2008.
- [31] FURUTANI, S.; NAGAI, H; TAKAMURA, Y.; KUBO i. - Compact disk (CD)-shaped device for single cell isolation and PCR of a specific gene in the isolated cell, Analytical and Bioanalytical Chemistry, December 2010, Volume 398, Issue 7, pp 2997-3004.
- [32] KOPP, M. U.; de MELLO, A. J.; MANZ, A. - Chemical amplification: continuous-flow PCR on a chip. Science. Vol. 280, no. 5366, (1998), p. 1046-1048. DOI: 10.1126/science.280.5366.1046.

- [33] MORGANTI, E. [et.al.] - A Micro Polymerase Chain Reaction Module for Integrated and Portable DNA Analysis Systems, Journal of Sensors, Volume 2011 (2011), Article ID 983430, 7, pages,<http://dx.doi.org/10.1155/2011/983430>.
- [34] PAEGEL, B. M. [et al.] - High throughput DNA sequencing with a microfabricated 96-lane capillary array electrophoresis bioprocessor. Proceedings of National Acad. Sci USA. (2002), p. 574-579. Published online 2002 Jan 15. doi:10.1073/pnas.012608699. Applied Biological Sciences.
- [35] LI, Z.; [et.al.] - Rapid and Variable-Volume Sampling Loading in Nonaqueous Microchip Electrophoresis. J. Braz. Chem. Soc., Vol. 25, No. 4, 770-776, 2014. Printed in Brazil - ©2014 Sociedade Brasileira de Química. <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20140038>.
- [36] HARRISOJ, D. J. [et al.] - Capillary electrophoresis and sample injection systems integrated on a planar glass chip. Analytical Chemistry. Vol. 64 (1992), p. 1926-1932.
- [37] HSIEH, J-F. [et al.] - Studies on the Analysis of Human Serum Proteins by the Gel-based Microchip and SDS-PAGE. Journal of Food and Drug Analysis, Vol. 18, No. 6, 2010, Pages 434-439.
- [38] SATO, K. [et al.] - Microchip-based chemical and biochemical analysis systems. Advanced Drug Delivery Reviews 55 (2003) 379–391.
- [39] FU, L-M.; LIN, C-H. - Numerical Analysis and Experimental Estimation of a Low-Leakage Injection Technique for Capillary Electrophoresis. Anal. Chem. 2003, 75, 5790-5796.
- [40] HARRIS, J. [et al.] - Fabrication of a Microfluidic Device for the Compartmentalization of Neuron Soma and Axons. J. Vis. Exp. (7), e261, doi:10.3791/261 (2007).
- [41] JUANGA, Y-Z. [et al.] - CMOS Biomedical Sensor with In Situ Gold Reference Electrode for Urine Detection Application. 26th European Conference on Solid-State Transducers, EUROSENSOR 2012 Procedia Engineering Volume 47, 2012, Pages 1005–1008.
- [42] KALOFONOU, M. [et al.] - An ISFET based translinear sensor for DNA methylation detection. Sensors and Actuators B: Chemical, Volume 161, Issue 1, 3 January 2012, Pages 156–162.

- [43] GUO, W.P.; FUNG Y.S. - Microfluidic Chip-capillary Electrophoresis with Adjustable On-Chip Samples Dilution For Profiling of Uninary. 14th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences 3 - 7 October 2010, Groningen, The Netherlands.
- [44] KHURANA, T.K.; SANTIAGO, J.G. - Preconcentration, Separation, and Indirect Detection of Nonfluorescent Analytes Using Fluorescent Mobility Markers. Department of Mechanical Engineering, Stanford University, Stanford, California 94305, Anal. Chem. 2008, 80, 279-286.
- [45] www. Roche-diagnostics.com/
- [46] JERRY, F. L. W, Applied Biofluid Mechanics, MC Graw Hill, 2007.
- [47] SCHIANTI, J. N., Sistema de Microcanais em Visro Para Aplicações em Microfluídica, Dissertação de Mestrato.São Paulo.POLI-USP-2008.
- [48] KOMORI, F. S. Desenvolvimento de um Simulador Computacional de Dinâmica de Flúidos Utilizando o Método de Lattice Boltzmann. Dissertação de Mestrado. São Paulo. 87p.POLI-USP-2012.
- [49] COMSOL. Multiphysics Modeling and Simulation Software. nov. 2011.
- [50] <http://www.comsol.de>
- [51] <http://aquamarina.lme.usp.br/lbsim>
- [52] MISSEN, R.W. [et al.] - INTRODUCTION TO CHEMICAL REACTION ENGINEERING AND KINETICS. **John Wiley & Sons, Inc.**ISBN 0-471-16339-2. 1999.
- [53] ROGALSKI, A.; BIELECKI, Z., Detection of Optical Radiation, **Bulletin of the polish academy os sciences** vol. 52, No. 1, 2004.
- [54] BOSCHETTI, Cesar, **Detectors de Infravermelho, Princípios e Caracterização**, Apostila, www.las.inpe.br/~cesar, acessado em 05/03/2009.
- [55] SZE, S. M. **Physics of Semiconductor Devices**. 2ed. New York: John Wiley & Sons, 1981.
- [56] REITZ, John; MILFORD, Frederick; CHRISTY, Robert. **Fundamentos da teoria eletromagnética**. Tradução de Renê Balduino Sander. – Rio de Janeiro: Campus, 1982.

- [57] REZENDE, Sérgio. **Materiais e Dispositivos Eletrônicos**. 2ed. São Paulo: Livraria da Física, 2004.
- [58] LEQUIME, Michel. Tunable thin film filters: review and perspectives. Advances in Optical Thin Films. In: **Proceedings of the SPIE**, Volume 5250, pp. 302-311 (2004).
- [59] VUOLO, J. H. **Visão Humana**. Apostila - 2004.(#)
- [60] VAUGHAN, J M - **Fabry-Perot interferometer: history, theory, practice and applications**, 2.ed., Adam Hilger, 1989, 583p.
- [61] BARTEK, M.; et.al., Stray-Ligth compensation in thin-film Fabry-Perot **In: Optical filters international conference on solid-state**, 10, Sendai, Japan, 1999. p. 240-243.
- [62] TUANTRANONT, Adisorn; BRIGHT, Victor M.. Introduction to Micro-Electro-Mechanical Systems (MEMS) with Emphasis on Optical Applications. **Neotec Technical Journal**, Vol.1 No.6, January-February, 2000(227).
- [63] KURTH, S.; HILLER, K.; DÖTZEL, W.; GEBNER, T.; NEUMANN, N.; HEINZE, M.. Tunable infrared filter based on Fabry-Perot-Interferometer. **Proc. of Micro System Technologies 2003**, Munich (Germany), 2003 Oct 7-8.
- [64] CORREIA, J. H.; Emadi, A. R.; WOLFFENBUTTEL, R. F.. UV Bandpass optical filter for microspectrometers, **ECS transactions**, Vol. 4, N°1, pp.141-147, Electro Chemical Society, NJ, USA. 2006.
- [65] EKLUND, E. Jesper; SHKEL, Andrei M.. Performance Tradeoffs in MEMS Sensor with High-Finesse Fabry-Perot Interferometry Detection, **NSTI-Nanotech 2005**, www.nsti.org. ISBN 0-9767985-2-2 Vol.3,2005 p-533-536.
- [66] CORREIA, J. H.; BARTEK, M.; WOLFFENBUTTEL, R. F.. High-Selectivity Single-Chip Spectrometer for Operation at Visible Wavelengths, **In: International electron devices meeting**, San Francisco, California, 1998 – “IEDM'98 : proceedings”. Piscataway: IEEE, 1998. ISBN 0-7803-4774-9. p. 467-470.
- [67] YANG, Heng. **Design And Fabrication Of A Tunable Fabry-Perot Interferometer/Photodiode Micro-Spectral Image Sensor**, M. Sc. Dissertation, University of Notre Dame, Indiana, United States, 2007.

- [68] COLE, G. D.; et. al.. Design and analysis of mems tunable vertical cavity semiconductor optical amplifiers, **In: International conference on indium phosphide and related materials**, USA, 2005, pages 114-117.
- [69] NEUMANN, Norbert; et. al.. Tunable infrared detector with integrated micromachined Fabry-Perot filter, **J. Micro/Nanolith. MEMS MOEMS** 7, 021004 (2008), DOI:10.1117/1.
- [70] CORREIA, J.H.. et. al.. Optical Microspectrometer using a Micro-Instrumentation Platform, **The 2nd International Conference on Integrated MicroNanotechnology for Space Applications**, Pasadena, CA, USA, 11-15 April, 1999, pp. 99-106.
- [71] CORREIA, J.H., et. al.. CMOS compatible optical sensors with thin film interference filters: fabrication and characterization, **In: Proc. Semiconductor Advances for Future Electronics (SAFE'98)**, Mierlo, The Netherlands, 25-26 November, Editor: J.P. Veen, (ISBN 90-73461-15-4), 1998, pp. 291-29.
- [72] DOBROWOLSKI, J. A.. Optical properties of films and coatings. **handbook of optics part 11** (www.digitalengineeringlibrary.com) Copyright © 2004 The McGraw-Hill Companies.
- [73] THELEN, Alfred J.. Design of optical interference coatings. **Optical and Electro-Optical Engineering**. West Germany. USA. New York. McGRAW-HILL Book Company.
- [74] Maksimović, M.. **Optical resonances in multilayer**, Ph.D. thesis, University of Twente, ISBN 978-90-365-2657-9. The Netherlands. 2008.
- [75] WANG, Z.Y.. Photonic crystal narrow filters with negative refractive index structural defects **Progress In Electromagnetics Research**, China, 2008, 421-430.
- [76] PÉREZ, E, X.. **Design, fabrication and characterization of porous silicon multilayer optical devices**. M. Sc. Dissertation Universitat Rovira i Virgili. France. ISBN:978-84-691-0362-3/DL: T.2181-2007.
- [77] MAKSIMOVIC, M. et. al.. Field representation for optical defect resonances in multilayer microcavities using quasi-normal modes, **Optics Communications**, Volume 281, The Netherlands, 2008, p. 1401-1411.
- [78] NENKOV, M.; PENCHEVA, T.. Multilayer symmetrical dielectric stacks for needs of near ir heat reflector design. **Bulgarian Journal of Physics** 25. Russe. 1998. p. 38-48.

- [79] DUYAR, O. et. al. Design and Preparation of Antireflection and Reflection Optical Coatings. **Turk J Phys**, Ankara-TURKEY.2004.
- [80] PARDO, B. et. Al. X-UV synthetic interference mirrors : theoretical approach. **Revue Phys. Appl...** France. 1988. p. 1579-1597.
- [81] LAROUCHE, S.; MARTINU, L.. OpenFilters: open-source software for the design, optimization, and synthesis of optical filters, **Appl. Opt.** **47**, Montréal, 2008. p. 219-230.
- [82] M. Bass, Handbook of optics, **optical society of America**, USA. StateMcGraw-Hill, 1995.
- [83] BORN, M. W. E.. **Principles of Optics**- 6ed.- ISBN 0-08-0264382.
- [84] KNIPPA, B. D.. Thin film technology based micro-fourier spectrometer, **Photonics West Micromachinig and Microfabrication**, Conference on MOEMS and Miniaturized Systems III, San Jose, California, USA, 2003.
- [85] MANDAL, S..Modeling and analysis of an extrinsic Fabry-Perot interferometer performance using MATLAB, India, 2004,en.iust.ac.ir/profs/Sadr/Papers/omdp21.pdf.
- [86] CORREIA, J. H.. Silver-based reflective coatings for micromachined optical filters, **Journal of Micromechanics and Microengineering**, The Netherlands. 1999. pp. 162-165.
- [87] BARTEK, M.. Quality Fator of Thin-Film Fabry-Perot Resonators: Dependence on Interface Roughness, EUROSENSORS XIII The 13th **European Conference on Solid-State Transducers**, The Netherlands, 1999.
- [88] KLAASSEN,T.. Imperfect Fabry-Perot resonators, Casimir PhD Series. ISBN-10: 90-8593-018-9. ISBN-13: 978-90-8593-018-1. Delft-Leiden, 2006.
- [89] CORREIA, J. H.. Optical Microsystems in Silicon Based on a Fabry-Perot resonance cavity Application for spectral analysis of visible light. ISBN 90-407-1870-9. The Netherlands. 1999.
- [90] <http://www.sspectra.com/>
- [91] <http://www.ftgsoftware.com/>

- [92] ABEL-TIBERINI, L.. Manufacturing of linear variable filters with straight iso-thickness lines, **Proc. of SPIE** Vol. 5963, 59630B, Marseille, France.2005.
- [93] LIU C. [et al.].Theoretical design of shadowing masks for uniform coatings on spherical substrates in planetary rotation systems. Institute of Optics and Electronics, Chinese Academy of Sciences, China. 2012.
- [94] KO, C-H. [ET AL.]. Analytical modeling and tolerance analysis of a linear variable filter for spectral order sorting. National Taiwan University of Science and Technology, Taiwan.2015.
- [95] SANTO, A. M. E. Influence of the oxygen partial and total pressures on the proppertie of DC sputtered titanium dioxide thin films, **Final Report CFBEE Student**, IPA/École Polytechnique Fédérale de Lausanne, Lausanne, 2000.
- [96] SCAPIN, V. O. **Determinação da Espessura e Composição Química de Filmes Finos**, Dissertação de Mestrado, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN, São Paulo, 2004.
- [97] ABEL-TIBERINI L. [ET AL.]. Dedicated spectrophotometer for localized transmittance and reflectance measurements, March 2006 / Vol. 45, No. 7 / APPLIED OPTICS.
- [98] LI, Q.. **Light scattering of semitransparent media**, M. Sc., School of Mechanical Engineering Georgia Institute of Technology. Georgia. USA. May 2008.
- [99] <http://www.taosinc.com/getfile.aspx?type=press&file=tsl1401r-lf-e8.pdf>,<http://www.taosinc.com/getfile.aspx?type=press&file=tsl1410r-e29.pdf>
- [100] <http://www.ti.com/lit/gpn/msc1211y5>,
http://www.atmel.com/dyn/resources/prod_documents/2503S.pdf,
- [101] DELAURÉ, B. [ET AL.]. THE GEOSPECTRAL CAMERA: A COMPACT AND GEOMETRICALLY PRECISE HYPERSPECTRAL AND HIGH SPATIAL RESOLUTION IMAGER. International Archives of the Photogrammetry, Remote Sensing and Spatial Information Sciences, Volume XL-1/W1, ISPRS Hannover Workshop 2013, 21 – 24 May 2013, Hannover, Germany.
- [102] SILVA, C. M., Design of a Variable-Interference Filter (VIF) for Compact High Resolution Wavelength Detectors, doi: 10.1149/04901.0331ecst ECS Trans. 2012 volume 49, issue 1, 331-338.

Apêndice A – Análise por Retroespalhamento Rutherford (RBS)

Os espectros foram obtidos no acelerador de íons do LAMFI-IF-USP e analisados através do programa SIMNRA. A Tabela A. 1 mostra um espectro de RBS típico obtido com a amostra analisada.

Figura A.1: Espectro de RBS experimental típico e ajuste por simulação - amostra de Al sobre vidro.

Sumário das medidas de RBS. As posições 1, 2, 3 e 4 encontravam-se em linha reta na direção da variação linear da deposição e equidistantes umas das outras (distância de 1 mm).

Tabela A. 1: Sumário das medidas de RBS.

		Posição 1	Posição 2	Posição 3	Posição 4
	Espessura (10 ¹⁵ at/cm ²)	237,00	237,00	237,00	237,00
Camada 1	Concentrações				
	O	0,2778	0,1278	0,2230	0,1600
	Al	0,7222	0,8722	0,7770	0,8400
	Espessura (10 ¹⁵ at/cm ²)	500,00	500,00	500,00	500,00
Camada 2	Concentrações				
	O	0,6000	0,6000	0,5156	0,5600
	Al	0,4000	0,4000	0,4844	0,4400

Ions: 4He; Energia do ions incidente: 2200.00 (keV); Geometria : Alpha (graus): 0.00 Beta (graus): 10.00 Teta (graus): 170.00; Detector: Estado Sólido.

Apêndice B – Análise do ácido úrico por reação de ponto final.

AMOSTRA

Preparo do paciente

Recomenda-se jejum mínimo de 8 horas e coleta pela manhã, pois variações circadianas são observadas.

Tipos de amostra

Usar soro, urina (colhida em intervalo de 24 horas) ou líquidos amniótico e sinovial. Não usar plasma, pois obtêm-se resultados falsamente diminuídos.

Urina: homogeneizar a urina, separar 10 mL, acertar o pH entre 7,0 e 9,0 com NaOH 5% e aquecer 10 minutos a 56 °C para dissolver os cristais de urato e ácido úrico. Diluir a urina 1:10 (0,1 mL de urina + 0,9 mL de água destilada ou deionizada). Multiplicar o resultado obtido por 10 (dez).

Armazenamento e estabilidade da amostra

O analito é estável por 3 dias entre 2 – 8 °C e por 6 meses a 10 °C negativos.

Volume mínimo

(Definir o volume mínimo a ser encaminhado para análise)

Volume ideal

(Definir o volume ideal a ser encaminhado para análise)

CrITÉRIOS para rejeição da amostra

Urina: presença de ácido ascórbico.

Fazer referência ao manual ou POP de coleta, separação e distribuição de material.

PRODUTO UTILIZADO

Ácido Úrico Liquiform, Catálogo 73-4/30 e 73-2/100

ANVISA - 10009010071

Labtest Diagnóstica

Av. Paulo Ferreira da Costa, 600

Lagoa Santa, MG, 33400-000

Reagente 1: Armazenar entre 2 – 8 °C.

Reagente 2: Armazenar entre 2 – 8 °C.

Padrão – 6,0 mg/dL: Armazenar entre 2 – 8 °C. Armazenar bem vedado para evitar evaporação.

Preparo do Reagente de Trabalho: o conjunto de um frasco de Reagente 1 e de um frasco de Reagente 2 permite preparar o Reagente de Trabalho.

Opcionalmente pode-se preparar volumes menores do Reagente de Trabalho, utilizando a proporção de 4 volumes do Reagente 1 e 1 volume do Reagente 2.

Indicar o modo de preparação a ser utilizado no laboratório e o modo de identificação do reagente de trabalho.

Estável 5 dias entre 15 – 25 °C e 90 dias entre 2 – 8 °C quando não houver contaminação química ou bacteriana. Não congelar.

Para preservar o desempenho, o reagente deve permanecer fora da geladeira somente o tempo necessário para obter o volume a ser utilizado. Evite exposição à luz solar.

Contém: tampão 80 mmol/L, pH 7,0; uricase ≥ 100 U/L; peroxidase ≥ 13300 U/L; 4-aminoantipirina 0,7 mmol/L; ácido 3,5 diclorohidroxibenzeno (DHBS) 2 mmol/L; azida sódica 0,8 mmol/L.

Precauções e cuidados especiais

1. Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação do reagente.
Fazer referência ao manual ou POP de segurança.
2. Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições indicadas são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo. Durante o manuseio, os reagentes estão sujeitos à contaminação de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade. *O laboratório deve estabelecer a estabilidade em suas condições operacionais.*
3. Os reagentes contêm azida sódica, que é tóxica. Deve-se tomar cuidado para evitar a ingestão e, no caso de contato com os olhos, lavá-los imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. A azida pode formar compostos altamente explosivos com tubulações de chumbo e cobre. Utilizar grandes volumes de água para descartar o reagente. *Fazer referência ao manual ou POP de segurança.*
4. O Reagente de Trabalho é usualmente amarelo claro ou ligeiramente rosa. Desprezá-lo quando sua absorbância, medida contra a água, for igual ou maior que 0,300.

EQUIPAMENTOS

Procedimento manual

1. Fotômetro capaz de medir com exatidão a absorbância em 520 nm ou filtro verde (490 a 540 nm).
2. Incubador ou banho-maria mantido a temperatura constante (37 °C).
3. Pipetas para medir amostras e reagentes.
4. Cronômetro.

Procedimento automatizado

Indicar o nome, modelo e o local onde se encontra o equipamento analítico; fazer referência ao manual ou POP para utilização do mesmo.

Procedimento alternativo

Indicar o equipamento alternativo e os procedimentos para medição dos ensaios. Enumerar as diferenças esperadas quando procedimentos manuais substituem procedimentos automatizados.

CONTROLE DA QUALIDADE

Materiais

Identificar os materiais para controle interno e externo da qualidade (fabricante, número de catálogo), instruções de preparo e frequência da utilização dos mesmos.

Limites de tolerância

Descrever o procedimento para definição dos limites de tolerância, o sistema adotado para utilização do mapa de Levey-Jennings e das regras de controle e as providências a serem tomadas diante de valores que ultrapassem tais limites. Fazer referência ao manual ou POP para utilização dos materiais de controle.

Verificação de novo lote de controles e/ou reagentes

Descrever o procedimento de verificação de novos lotes de controles e de reagentes.

Gerenciamento dos dados

Definir como os dados relativos ao controle da qualidade são arquivados e gerenciados. Fazer referência ao manual ou POP de garantia da qualidade.

PROCEDIMENTO

Procedimento manual

1. Tomar 3 tubos de ensaio e proceder como a seguir:

	Branco	Teste	Padrão
Amostra	-----	0,02 mL	-----
Padrão (nº 3)	-----	-----	0,02 mL
Reagente de Trabalho	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL

2. Misturar e colocar em banho-maria 37 °C durante 10 minutos. O nível de água no banho deve ser superior ao nível de reagentes nos tubos de ensaio.
3. Determinar as absorbâncias do teste e padrão em 520 nm ou filtro verde (490 a 540 nm), acertando o zero com o branco. A cor é estável por 15 minutos.
4. Indicar a necessidade de mudanças no volume de reagente em função do instrumento utilizado.

Procedimento automatizado

Fazer referência ao manual ou POP para utilização do equipamento analítico. Anexar o guia de aplicação dos reagentes para o sistema automático.

Precauções e cuidados especiais

1. Para manusear e descartar reagentes e material biológico, aplicar as normas estabelecidas de segurança. *Fazer referência ao manual ou POP de segurança.*
2. A limpeza e secagem adequadas do material são fatores fundamentais para a estabilidade dos reagentes e obtenção de resultados corretos. *Fazer referência ao manual ou POP de limpeza e verificação da qualidade da limpeza dos materiais.*
3. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes e usar nas medições, deve ter resistividade ≥ 1 megaohm ou condutividade ≤ 1 microsiemens e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L (água tipo II). Para o enxágüe da vidraria a água pode ser do tipo III, com resistividade $\geq 0,1$ megaohms ou condutividade ≤ 10 microsiemens. No enxágüe final utilizar água tipo II. Quando a coluna deionizadora está com sua capacidade saturada ocorre a produção de água alcalina com liberação de vários íons, silicatos e substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando os resultados de modo imprevisível. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água. *Fazer referência ao manual ou POP de água reagente.*