



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA ELÉTRICA  
MESTRADO EM ENGENHARIA ELÉTRICA

JACKSON CARLOS SOUSA BATISTA

**FILTRO DE DADOS COM REDES NEURAIIS MULTINÍVEL PARA REMOÇÃO DE  
RUÍDOS NA RESPOSTA DE SENSORES BASEADOS NA RESSONÂNCIA DE  
PLASMON DE SUPERFÍCIE**

MOSSORÓ

2020

JACKSON CARLOS SOUSA BATISTA

**FILTRO DE DADOS COM REDES NEURAS MULTINÍVEL PARA REMOÇÃO DE  
RUÍDOS NA RESPOSTA DE SENSORES BASEADOS NA RESSONÂNCIA DE  
PLASMON DE SUPERFÍCIE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia Elétrica. .  
Orientador: Prof. Dr. Leiva Casemiro Oliveira

Coorientador: Prof. Dr. Marcus Vinicius S. Costa

MOSSORÓ

2020

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

B335f Batista, Jackson.  
FILTRO DE DADOS COM REDES NEURAIIS MULTINÍVEL  
PARA REMOÇÃO DE RUÍDOS NA RESPOSTA DE SENSORES  
BASEADOS NA RESSONÂNCIA DE PLASMON DE SUPERFÍCIE  
/ Jackson Batista. - 2020.  
120 f. : il.

Orientador: Leiva Oliveira .  
Coorientador: Marcus Costa.  
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal  
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em  
Engenharia Elétrica, 2020.

1. Máquinas de comitê.. 2. Redução de ruídos. .  
3. Sensores ópticos.. 4. Ressonância de plásmons de  
superfície. . 5. Filtro em tempo real.. I.  
Oliveira , Leiva, orient. II. Costa, Marcus, co-  
orient. III. Título.

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.



## RESUMO

Sensores baseados na ressonância de plasmons superfície (SPR) são dispositivos comumente utilizados para detectar interações moleculares, tais interações são classificadas por meio da computação das características da curva SPR. A instrumentação utilizada nos sensores SPR exige condições específicas para acoplamento de componentes óptico-eletrônicos, mecânicos e fluídicos para a correta excitação dos plasmons de superfície. Ruídos inerentes a essa instrumentação e do uso do sensor refletem-se na curva SPR, afetando a qualidade das características extraídas. Através do processamento inteligente de dados, objetiva-se eliminar os principais ruídos generalistas inerentes ao processo de análise com o uso de sensores SPR. Para isso, um filtro-inteligente baseado em redes neurais artificiais multicamadas foi projetado. Denominado de Neural Net SPR Filter (NNSF), o filtro foi acoplado a sensores SPR operando nos modos de interrogação espectral (WIM) e angular (AIM). Para ampliar a capacidade de aplicação do filtro implementou-se uma máquina de comitê que atua na redução da variância, sendo uma alternativa para sistema com elevado nível de ruído. O NNSF, aproximou a resposta experimental à resposta teórica com erro médio quadrático na ordem de  $10^{-5}$  e índices de correlação de modelo testado acima de 90%, drenando a maior parte dos ruídos presentes durante os experimentos. Com o uso do NNSF registrou-se melhor desempenho para o monitoramento da Largura, Energia, Fase, Assimetria e Posição de ressonância (ângulo e comprimento de onda mínimos) das curvas SPR. O filtro contorna ruídos devido a aspectos como rugosidade na camada de filme metálico, imprecisão de ângulo e/ou comprimento de onda da luz incidente, além de remover oscilações eletromagnéticas de amplitude e fase, devido a ausência de controle na temperatura e corrente da fonte luminosa e do ambiente experimental. Desse modo, o NNSF demonstra-se uma alternativa menos onerosa, evitando a substituição ou incorporação de novos componentes.

**Palavras-chave:** Máquinas de comitê. Redução de ruídos. Sensores ópticos. Ressonância de plásmons de superfície. Filtro em tempo real.

## ABSTRACT

Surface plasmon resonance (SPR) sensor devices are conventionally used for molecular interaction detection from features extracted from the SPR curve, which represents the resonance position and reflects the quality of the provided response. The instruments used in the SPR sensors require very specific coupling conditions for optical-electronic, mechanical, and fluidic components in order to have the correct excitation of surface plasmons obtained. Inherent noise from the sensor and in these instruments is reflected on the SPR curve and has an impact on the quality of the extracted features. Smart data processing is used to eliminate the main general noise inherent to the analysis process of the SPR sensors. A multilayer artificial neural network-based smart filter (NNSF) was designed for this purpose and coupled to SPR sensors running in spectral/wavelength interrogation (WIM) and angular interrogation (AIM) modes. To increase the filter's application capacity, a committee machine was implemented to reduce variance, being an alternative for a system with a high level of noise. NNSF correlated the experimental and theoretical responses, with a mean square error of  $10^{-5}$  and tested model correlation indexes over 90%, consequently draining most of the noise throughout the experiments. The use of NNSF led to better Width, Energy, Phase, Asymmetry, and Position (minimum wavelength and angle) resonance monitoring performance of the SPR curves. Filter noise bypassing occurs due to the following aspects: metallic film layer roughness and imprecise incident light angle and/or wavelength. The filter also eliminates amplitude and phase electromagnetic oscillations caused by defective temperature, luminous source current, and experimental environment control. For this reason, NNSF has been a less onerous alternative, avoiding the replacement or incorporation of new components.

**Keywords:** Committee Machines. Noise Reduction. Optical sensors. Surface Plasmon Resonance. Real-time filtering

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – a) Diagrama de blocos de um sensor SPR. b) Esquema ilustrativos de um sensor SPR. A luz refletida é convertida na curva SPR e seu valor mínimo representa a posição de ressonância. . . . .	23
Figura 2 – Componentes necessários para configuração de Kretschmann, com foco no campo evanescente ( $E_{ev}$ ), vetor de onda de luz incidente ( $K_{px}$ ) e vetor de SP ( $K_{sp}$ ) . . . . .	30
Figura 3 – Sistema com 4 camadas em configuração kretschmann, onde (1) é o substrato óptico-prisma, (2) metal, (3) e (4) representam o analito, $\vec{k}$ é o vetor de onda, H e E são os campos magnético e elétrico da luz . . . . .	31
Figura 4 – Curva SPR para o modo AIM ou WIM com os respectivos parâmetros classificatórios, uma mudança no material analisado provoca o deslocamento da curva e conseqüentemente variação nos parâmetros . . . . .	35
Figura 5 – Sensorgrama para o ciclo experimental $H_2O \rightarrow$ Etanol 25% $\rightarrow H_2O \rightarrow$ Etanol 12,5% $\rightarrow H_2O \rightarrow$ BSA $\rightarrow H_2O \rightarrow$ Etanol 12,5%. . . . .	36
Figura 6 – Modelo de neurônio artificial, em que X representam entradas de estímulos, W são os pesos sinápticos, b representa bias, V é a soma de todas as entradas ponderadas, $\Phi$ é função de ativação, y é a resposta ao estímulo das entradas . . . . .	37
Figura 7 – Exemplo de rede alimentada diretamente com Múltiplas camadas, com $x_n$ nós de fonte, $n_1$ nós computacionais na primeira camada escondida e $n_2$ saídas . . . . .	38
Figura 8 – Exemplo de RNA PMC, com $x_n$ nós de fonte, $n_1$ $n_2$ nós computacionais na primeira e segunda camada escondida, respectivamente, e $n_2$ saídas . . . . .	41
Figura 9 – Diagrama de blocos de uma máquina de comitê estático ensemble-averaging . . . . .	45
Figura 10 – Diagrama de blocos de uma máquina de comitê dinâmico com mistura de especialistas . . . . .	47
Figura 11 – Diagrama de blocos de uma máquina de comitê dinâmico com mistura hierárquica de especialistas. As saídas dos especialistas (1,1) e (2,1) são combinadas por $g_{11}$ e $g_{21}$ , produzindo uma saída $g_1$ que é combinada com a saída $g_2$ , produzindo uma saída y geral . . . . .	47
Figura 12 – Filtro NNSF: as distorções entre as curvas são computadas e a estrutura do NNSF é escolhida. Com o filtro concluído aplicam-se as curvas experimentais na entrada do NNSF e obtém-se as curvas filtradas . . . . .	49

Figura 13 – Cuvas SPR teóricas WIM do sensor com prisma de BK7/Au (50 nm) para $H_2O$ , PBS, BSA e Hipo. . . . .	50
Figura 14 – Cuvas SPR teóricas AIM do sensor com prisma de BK7/Au (50 nm) para $H_2O$ , PBS, BSA e Hipo. . . . .	50
Figura 15 – Fotografia do PPBIO a) antes e b) depois da deposição de 50 nm de ouro. c) diagrama de blocos da estrutura WIM. d) fotografia do set-up experimental e) diagrama de blocos da estrutura WIM e AIM. . . . .	51
Figura 16 – Cuvas SPR experimentais para $H_2O$ , PBS, BSA e Hipo. obtidas com o sensor desenvolvido com prisma de BK7/Au (50 nm). As curvas possuem formas parabólica, contudo os ruídos induzem o aparecimento de oscilações sobre estas	52
Figura 17 – Cuvas SPR experimentais AIM para $H_2O$ , PBS, BSA e Hipo. obtidas com o sensor desenvolvido com prisma de BK7/Au (50 nm). . . . .	52
Figura 18 – Algoritmo para seleção da arquitetura da RNA, com base nos parâmetros estatísticos, EMQ, ICMT e ICMV. . . . .	55
Figura 19 – Arquitetura da rede neural embarcada no sensor SPR inteligente para atuar como filtro de dados SPR no modo WIM. . . . .	56
Figura 20 – Influência do coeficiente de aprendizagem sobre o regime transitório (EMQ por Épocas). . . . .	56
Figura 21 – Divisão do espaço de amostragem em cinco regiões classificadas inicialmente segundo o índice de refração ponderado. . . . .	57
Figura 22 – Curva de ensemble para a RNA 8 após 1000 épocas. Destaque para o regime transitório presente nas primeiras 100 épocas. Demonstra-se a estabilização do EMQ no regime permanente . . . . .	58
Figura 23 – Divisão do espaço de amostragem. Regiões classificadas de acordo com o índice de refração ponderado . . . . .	59
Figura 24 – Arquitetura da rede neural embarcada no sensor SPR inteligente para atuar como filtro de dados SPR no modo AIM. . . . .	60
Figura 25 – Curva de ensemble para a RNA 9 após 1000 épocas, destaque para o regime transitório nas 100 primeiras épocas. . . . .	61
Figura 26 – Curvas experimentais e teóricas para para sistema multicamada composto por Ouro e Pc. . . . .	62

Figura 27 – Curvas experimentais e teóricas para para sistema multicamada composto por prata e Pc. . . . .	63
Figura 28 – Comitê dinâmico com dois especialistas, a saída do especialista RNA 1 é dada por U1 e a saída do especialista RNA 2 é dada por U2, de acordo com o índice de refração de cada substância o comitê julga a ponderação de cada especialista . . . . .	64
Figura 29 – Curvas experimentais e teóricas para para sistema multicamada composto por prata e Pc. . . . .	65
Figura 30 – Interface gráfica parte A . . . . .	66
Figura 31 – Interface gráfica parte B . . . . .	68
Figura 32 – Curvas experimentais e teóricas utilizadas para o treinamento da RNA para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo WIM. . . . .	70
Figura 33 – Curvas SPR experimentais obtidas com a execução do protocolo experimental. Sem o filtro as curvas apresentam mudanças de forma devido aos ruídos presentes no sensor. Após a aplicação do filtro, as curvas apresentam formas semelhantes aos resultados teóricos. . . . .	71
Figura 34 – Sensorgrama experimental para os valores de $\lambda_R$ gerados em azul. Em vermelho a aplicação do filtro RNA. . . . .	72
Figura 35 – Sensorgramas de largura, para o sistema multicamada composto por Ouro e BK7 em modo WIM. . . . .	72
Figura 36 – Sensorgramas de assimetria para o sistema multicamada composto por Ouro e BK7 em modo WIM. . . . .	73
Figura 37 – Sensorgrama de energia, para o sistema multicamada composto por Ouro e BK7 em modo WIM. . . . .	74
Figura 38 – Sensorgrama de fase, para o sistema multicamada composto por Ouro e BK7 em modo WIM. . . . .	75
Figura 39 – Curvas SPR teóricas e experimentais utilizadas para o treinamento do filtro para a multicamada composta por Ouro e BK7 e modo AIM. . . . .	76
Figura 40 – Curvas obtidas com a aplicação do filtro em comparação com as curvas experimentais de entrada . . . . .	77
Figura 41 – Sensorgrama de ângulo de ressonância, consiste em plotar o ângulo mínimo de cada curva SPR no tempo por meio do Minimum Hunt. . . . .	78

Figura 42 – Sensorgrama de largura para a multicamada Au/Bk7 AIM. . . . .	78
Figura 43 – Sensorgrama de assimetria para a multicamada de Au/Bk7 AIM . . . . .	79
Figura 44 – Sensorgrama de variação de energia, consiste em plotar a variação de energia para cada curva SPR no tempo. . . . .	80
Figura 45 – Sensorgrama de fase para a multicamada Au/Bk7 AIM . . . . .	81
Figura 46 – Curvas utilizadas para o treinamento da RNA, sistema multicamada alumínio e BK7 em modo AIM . . . . .	81
Figura 47 – Curvas utilizadas para o treinamento da RNA, sistema multicamada alumínio e BK7 em modo AIM . . . . .	83
Figura 48 – Sensorgrama de ângulo de ressonância para o sistema multicamada Alumínio e BK7 . . . . .	83
Figura 49 – Sensorgrama de largura para o sistema multicamada Alumínio e BK7 . . . .	84
Figura 50 – Sensorgrama de assimetria para o sistema multicamada Alumínio e BK7 . .	85
Figura 51 – Sensorgrama de energia para o sistema multicamada Al/BK7 AIM . . . . .	86
Figura 52 – Sensorgrama de fase para o sistema multicamada Al/BK7 AIM. . . . .	86
Figura 53 – Curvas utilizadas para o treinamento da RNA, sistema multicamada Al/BK7 WIM . . . . .	87
Figura 54 – Curvas utilizadas para o treinamento da RNA, sistema multicamada alumínio e BK7 em modo WIM . . . . .	88
Figura 55 – Sensorgrama de ângulo de ressonância para o sistema multicamada Alumínio e BK7 . . . . .	89
Figura 56 – Sensorgrama de largura para o sistema multicamada Alumínio e BK7 . . . .	89
Figura 57 – Sensorgrama de assimetria para o sistema multicamada Alumínio e BK7 . .	90
Figura 58 – Sensorgrama de energia para o sistema multicamada Alumínio e BK7 em modo WIM . . . . .	91
Figura 59 – Sensorgrama de fase para o sistema multicamada Alumínio e BK7 WIM . .	91
Figura 60 – Curvas utilizadas para o treinamento da RNA, sistema multicamada Cobre e BK7 em modo AIM . . . . .	92
Figura 61 – Comportamento do filtro para o arranjo multicamada constituído por Cobre e BK7 . . . . .	93
Figura 62 – Sensorgrama de ângulo de ressonância para o sistema multicamada Cobre e BK7 em modo AIM . . . . .	94

Figura 63 – Sensorgrama de largura para o sistema multicamada Cobre e BK7 em modo AIM . . . . .	95
Figura 64 – Sensorgrama de assimetria para o sistema multicamada Cobre e BK7 em modo AIM . . . . .	96
Figura 65 – Sensorgrama de energia para o sistema multicamada Cobre e BK7 em modo AIM . . . . .	97
Figura 66 – Sensorgrama de fase para o sistema multicamada cobre e BK7 em modo AIM	97
Figura 67 – Curvas utilizadas para o treinamento da RNA, sistema multicamada Cobre e BK7 em modo WIM . . . . .	98
Figura 68 – Comportamento do filtro para o arranjo multicamada constituído por Cobre e BK7 em modo WIM . . . . .	99
Figura 69 – Sensorgrama de comprimento de onda de ressonância para o sistema multicamada Cobre e BK7 . . . . .	100
Figura 70 – Sensorgrama de largura para o sistema multicamada Cobre e BK7 em modo WIM . . . . .	101
Figura 71 – Sensorgrama de assimetria para o sistema multicamada Cobre e BK7 em modo WIM . . . . .	101
Figura 72 – Sensorgrama de energia para o sistema multicamada Cobre e BK7 em modo WIM . . . . .	102
Figura 73 – Sensorgrama de fase para o sistema multicamada cobre e BK7 WIM . . . . .	103
Figura 74 – Curvas utilizadas para o treinamento da RNA, sistema multicamada Prata e BK7 em modo WIM . . . . .	103
Figura 75 – Índice de refração ( $N$ apresentado na Equação (3.5) ), utilizado como juiz do comitê dinâmico. Por meio do índice de refração também é possível dividir o espaço de amostragem em regiões, sendo um critério para seleção de curvas representativas . . . . .	104
Figura 76 – Comportamento do filtro para o arranjo multicamada constituído por Prata e BK7 em modo WIM . . . . .	105
Figura 77 – Sensorgrama de comprimento de onda de ressonância para o sistema multicamada Prata e BK7 em modo WIM . . . . .	106
Figura 78 – Sensorgrama de largura para o sistema multicamada Prata e BK7 em modo WIM . . . . .	106

Figura 79 – Sensorgrama de assimetria para o sistema multicamada Prata e BK7 . . . . .	107
Figura 80 – Sensorgrama de energia para o sistema multicamada Prata e BK7 em modo WIM . . . . .	108
Figura 81 – Sensorgrama de fase para o sistema multicamada Prata e BK7 WIM . . . . .	108
Figura 82 – Curvas utilizadas para o treinamento da RNA, sistema multicamada Prata e BK7 em modo AIM . . . . .	109
Figura 83 – Índice de refração ponderado, para a multicamada Ag/Bk7 AIM. Ênfase para o ponto onde ocorre dissociação ( $H_2OD$ . . . . .	110
Figura 84 – Comportamento do filtro para a multicamada Ag/Bk7 AIM. A) Curvas expe- rimentais filtradas e B) Curvas experimentais sem filtro . . . . .	111
Figura 85 – Sensorgrama de comprimento de onda de ressonância para a multicamada Ag/Bk7 AIM . . . . .	111
Figura 86 – Sensorgrama de largura para o sistema multicamada Prata e BK7 em modo AIM . . . . .	112
Figura 87 – Sensorgrama de assimetria para o sistema multicamada Prata e BK7 . . . . .	112
Figura 88 – Sensorgrama de energia para o sistema multicamada Prata e BK7 em modo AIM . . . . .	113
Figura 89 – Sensorgrama de fase para o sistema multicamada Prata e BK7 AIM . . . . .	114
Figura 90 – a) Comparação entre métodos de filtragem, b) Curvas SPR para todas as substâncias durante o procedimento experimental. Sensorgramas representa- tivos de c) $\Delta\theta_R$ and d) largura extraídos com a variação do tempo. As setas indicam a substância de cada regime permanente . . . . .	115

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Trabalhos relacionados versus lacunas . . . . .	27
Tabela 2 – Diferentes combinações na quantidades de neurônios das camadas escondidas 1 e 2 e seus respectivos parâmetros estatísticos. . . . .	54
Tabela 3 – Influência do coeficiente de aprendizagem sobre ICMT e EMQ. . . . .	56
Tabela 4 – Seleção de curvas representativas por regiões da amostra. adota-se a curva SPR com o menor EMQ máximo dentro de uma região, diz-se que a curva selecionada representa a região . . . . .	57
Tabela 5 – Seleção de curvas representativas por regiões da amostra. Configuração AU/BK7 em modo AIM . . . . .	59
Tabela 6 – Diferentes combinações na quantidades de neurônios das camadas escondidas 1 e 2 e seus respectivos parâmetros estatísticos para o modo AIM. . . . .	60
Tabela 7 – Legenda para interface gráfica . . . . .	68
Tabela 8 – Comparativo entre o $\lambda_R$ teórico ( $\lambda_{RT}$ ), $\lambda_R$ experimental sem filtro ( $\lambda_{Rraw}$ ) e $\lambda_R$ experimental com filtro ( $\lambda_{R-NNSF}$ ), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo WIM . . . . .	71
Tabela 9 – Comparativo entre largura teórica (LT),Largura experimental sem filtro ( $L_{raw}$ ) e largura experimental com filtro (L-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo WIM . . . . .	73
Tabela 10 – Comparativo entre assimetria teórica (AT), assimetria experimental sem filtro ( $A_{raw}$ ) e assimetria experimental com filtro (A-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo WIM . . . . .	73
Tabela 11 – Comparativo entre energia teórica (ET), energia experimental sem filtro ( $E_{raw}$ ) e energia experimental com filtro (E-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo WIM . . . . .	74
Tabela 12 – Comparativo entre fase teórica (FT), fase experimental sem filtro ( $F_{raw}$ ) e fase experimental com filtro (F-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo WIM . . . . .	75
Tabela 13 – Comparativo entre o $\theta_R$ teórico ( $\theta_{RT}$ ), $\theta_R$ experimental sem filtro ( $\theta_{Rraw}$ ) e $\theta_R$ experimental com filtro ( $\theta_{R-NNSF}$ ), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo AIM . . . . .	78

Tabela 14 – Comparativo entre largura teórica (LT),Largura experimental sem filtro ( $L_{raw}$ ) e largura experimental com filtro (L-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo AIM . . . . .	79
Tabela 15 – Comparativo entre assimetria teórica (AT), assimetria experimental sem filtro ( $A_{raw}$ ) e assimetria experimental com filtro (A-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo AIM . . . . .	79
Tabela 16 – Comparativo entre energia teórica (ET), energia experimental sem filtro ( $E_{raw}$ ) e energia experimental com filtro (E-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo AIM . . . . .	80
Tabela 17 – Comparativo entre fase teórica (FT), fase experimental sem filtro ( $F_{raw}$ ) e fase experimental com filtro (F-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo WIM . . . . .	80
Tabela 18 – Comparativo entre o $\theta_R$ teórico ( $\theta_{RT}$ ), $\theta_R$ experimental sem filtro ( $\theta_{Rraw}$ ) e $\theta_R$ experimental com filtro ( $\theta_R$ -NNSF), para a multicamada composta por Alumínio e BK7 em modo AIM . . . . .	84
Tabela 19 – Comparativo entre largura teórica (LT),Largura experimental sem filtro ( $L_{raw}$ ) e largura experimental com filtro (L-NNSF), para a multicamada composta por Alumínio e BK7 em modo AIM . . . . .	84
Tabela 20 – Comparativo entre assimetria teórica (AT), assimetria experimental sem filtro ( $A_{raw}$ ) e assimetria experimental com filtro (A-NNSF), para a multicamada composta por Alumínio e BK7 em modo AIM . . . . .	85
Tabela 21 – Comparativo entre energia teórica (ET), energia experimental sem filtro ( $E_{raw}$ ) e energia experimental com filtro (E-NNSF), para a multicamada composta por Alumínio e BK7 em modo AIM . . . . .	85
Tabela 22 – Comparativo entre fase teórica (FT), fase experimental sem filtro ( $F_{raw}$ ) e fase experimental com filtro (F-NNSF), para a multicamada Al/BK7 AIM .	87
Tabela 23 – Comparativo entre o $\lambda_R$ teórico ( $\lambda_{RT}$ ), $\lambda_R$ experimental sem filtro ( $\lambda_{Rraw}$ ) e $\lambda_R$ experimental com filtro ( $\lambda_R$ -NNSF), para a multicamada composta por Alumínio e BK7 em modo WIM . . . . .	89
Tabela 24 – Comparativo entre largura teórica (LT),Largura experimental sem filtro ( $L_{raw}$ ) e largura experimental com filtro (L-NNSF), para a multicamada composta por Alumínio e BK7 em modo WIM . . . . .	90

Tabela 25 – Comparativo entre assimetria teórica (AT), assimetria experimental sem filtro ( $A_{raw}$ ) e assimetria experimental com filtro (A-NNSF), para a multicamada composta por Alumínio e BK7 em modo WIM . . . . .	90
Tabela 26 – Comparativo entre energia teórica (ET), energia experimental sem filtro ( $E_{raw}$ ) e energia experimental com filtro (E-NNSF), para a multicamada composta por Alumínio e BK7 em modo WIM . . . . .	91
Tabela 27 – Comparativo entre fase teórica (FT), fase experimental sem filtro ( $F_{raw}$ ) e fase experimental com filtro (F-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo WIM . . . . .	92
Tabela 28 – Comparativo entre o $\theta_R$ teórico ( $\theta_{RT}$ ), $\theta_R$ experimental sem filtro ( $\theta_{Rraw}$ ) e $\theta_R$ experimental com filtro ( $\theta_{R-NNSF}$ ), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo AIM . . . . .	95
Tabela 29 – Comparativo entre largura teórica (LT),Largura experimental sem filtro ( $L_{raw}$ ) e largura experimental com filtro (L-NNSF), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo AIM . . . . .	95
Tabela 30 – Comparativo entre assimetria teórica (AT), assimetria experimental sem filtro ( $A_{raw}$ ) e assimetria experimental com filtro (A-NNSF), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo AIM . . . . .	96
Tabela 31 – Comparativo entre energia teórica (ET), energia experimental sem filtro ( $E_{raw}$ ) e energia experimental com filtro (E-NNSF), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo AIM . . . . .	96
Tabela 32 – Comparativo entre fase teórica (FT), fase experimental sem filtro ( $F_{raw}$ ) e fase experimental com filtro (F-NNSF), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo AIM . . . . .	98
Tabela 33 – Comparativo entre o $\lambda_R$ teórico ( $\lambda_{RT}$ ), $\lambda_R$ experimental sem filtro ( $\lambda_{Rraw}$ ) e $\lambda_R$ experimental com filtro ( $\lambda_{R-NNSF}$ ), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo WIM . . . . .	100
Tabela 34 – Comparativo entre largura teórica (LT),Largura experimental sem filtro ( $L_{raw}$ ) e largura experimental com filtro (L-NNSF), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo WIM . . . . .	100

Tabela 35 – Comparativo entre assimetria teórica (AT), assimetria experimental sem filtro ( $A_{raw}$ ) e assimetria experimental com filtro (A-NNSF), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo WIM . . . . .	102
Tabela 36 – Comparativo entre energia teórica (ET), energia experimental sem filtro ( $E_{raw}$ ) e energia experimental com filtro (E-NNSF), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo WIM . . . . .	102
Tabela 37 – Comparativo entre fase teórica (FT), fase experimental sem filtro ( $F_{raw}$ ) e fase experimental com filtro (F-NNSF), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo WIM . . . . .	103
Tabela 38 – Comparativo entre o $\lambda_R$ teórico ( $\lambda_{RT}$ ), $\lambda_R$ experimental sem filtro ( $\lambda_{Rraw}$ ) e $\lambda_R$ experimental com filtro ( $\lambda_{R-NNSF}$ ), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo WIM . . . . .	105
Tabela 39 – Comparativo entre largura teórica (LT),Largura experimental sem filtro ( $L_{raw}$ ) e largura experimental com filtro (L-NNSF), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo WIM . . . . .	107
Tabela 40 – Comparativo entre assimetria teórica (AT), assimetria experimental sem filtro ( $A_{raw}$ ) e assimetria experimental com filtro (A-NNSF), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo WIM . . . . .	107
Tabela 41 – Comparativo entre energia teórica (ET), energia experimental sem filtro ( $E_{raw}$ ) e energia experimental com filtro (E-NNSF), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo WIM . . . . .	108
Tabela 42 – Comparativo entre fase teórica (FT), fase experimental sem filtro ( $F_{raw}$ ) e fase experimental com filtro (F-NNSF), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo WIM . . . . .	109
Tabela 43 – Comparativo entre o $\theta_R$ teórico ( $\theta_{RT}$ ), $\theta_R$ experimental sem filtro ( $\theta_{Rraw}$ ) e $\theta_R$ experimental com filtro ( $\theta_{R-NNSF}$ ), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo AIM . . . . .	111
Tabela 44 – Comparativo entre largura teórica (LT),Largura experimental sem filtro ( $L_{raw}$ ) e largura experimental com filtro (L-NNSF), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo AIM . . . . .	112

Tabela 45 – Comparativo entre assimetria teórica (AT), assimetria experimental sem filtro ( <i>Araw</i> ) e assimetria experimental com filtro (A-NNSF), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo AIM . . . . .	113
Tabela 46 – Comparativo entre energia teórica (ET), energia experimental sem filtro ( <i>Eraw</i> ) e energia experimental com filtro (E-NNSF), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo AIM . . . . .	113
Tabela 47 – Comparativo entre fase teórica (FT), fase experimental sem filtro ( <i>Fraw</i> ) e fase experimental com filtro (F-NNSF), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo WIM . . . . .	114
Tabela 48 – Comparação do desempenho por meio da sensibilidade para os dados teóricos e com NNSF. . . . .	114
Tabela 49 – Performance do NNSF vs FL . . . . .	115
Tabela 50 – Comparativo entre os dados estatísticos para o LF e o NNSF . . . . .	115

## LISTA DE SÍMBOLOS

<i>A</i>	Assimetria de uma curva SPR
<i>AF</i>	Análise de Fresnel
<i>AIM</i>	Modo de Interrogação Angular
<i>ATR</i>	<i>Attenuated Total Reflection</i>
<i>BK7</i>	Vidro óptico
<i>BSA</i>	Bovine Serum Albumin (proteína)
<i>CCD</i>	<i>Charge-Coupled Device</i>
<i>CMOS</i>	<i>Complementary Metal-Oxide Semiconductor</i>
<i>E</i>	Energia de uma curva SPR
<i>ECF</i>	Remete a um parâmetro Experimental Com aplicação de Filtro
<i>EMQ</i>	Erró Médio Quadrático
<i>ESF</i>	Remete a um parâmetro Experimental Sem aplicação do Filtro
<i>F</i>	Fase de uma curva SPR
<i>FFT</i>	Fast Fourier Transform
<i>FWHM</i>	Largura da curva SPR (Full Width at Half Maximum)
<i>HIPO</i>	Hipoclorito
<i>ICMT</i>	Índice de Correlação de Modelo Testado
<i>ICMV</i>	Índice de Correlação de Modelo Validade
<i>IR</i>	Índice de Refração
<i>LED</i>	Diodo emissor de luz (Light Emitting Diode)
<i>MCD</i> ou <i>PMC</i>	Matriz de coeficientes de distorção
<i>MLP</i> ou <i>PMC</i>	Redes Neurais Artificiais Multilayer Perceptron
<i>NNSF</i>	Neural Net SPR Filter
<i>OP</i>	Pronto de Operação
<i>PBS</i>	Phosphate Buffered Saline
<i>PC</i>	Policarbonato (polímero)

<i>PMMA</i>	Polimetil-metacrilato (polímero)
<i>PPBIO</i>	Prisma Polimérico para aplicações BIOLógicas
<i>RIT</i>	Reflexão Interna Total
<i>RIU</i>	Refractive Index Unit
<i>RNA</i>	Rene Neural Artificial
<i>SNR</i>	<i>Relação Sinal-Ruído</i>
<i>SP</i>	<i>Surface Plasmons</i>
<i>SPR</i>	<i>Surface Plasmons Resonance</i>
<i>T</i>	Quando precedido por um parâmetro, remete a valor teórico.
<i>TOPAS</i>	<i>Thermoplastic Olefin-polymer of Amorphous Structure</i>
<i>WIM</i>	Modo de Interrogação Espectral
$\beta_j$	Absorbância
$\epsilon$	Permissividade
$\epsilon_i$	Permissividade do meio i do arranjo multicamadas
$\epsilon_0$	Permissividade do vácuo
$\lambda$	Comprimento de onda
$\lambda_c$	Comprimento de onda de colisão
$\lambda_{res}$ ou $\lambda_R$	Comprimento de onda plasmônico ou comprimento de onda de ressonância
$\mu$	Permeabilidade
$\mu_0$	Permeabilidade do vácuo
$\omega$	Frequência angular
$\theta_{res}$ ou $\theta_R$	Ângulo plasmônico ou ângulo de ressonância
$C_r/C_r$	Comprimento do mínimo até o ponto médio da onda do lado direito e esquerdo
$d_i$	Espessura do meio i do arranjo multicamadas
$E$	Campo elétrico
$E_{ev}$	Campo evanescente
$H$	Campo magnético

$K$	Vetor de onda
$K_{px}$	Componente horizontal do vetor de onda da luz incidente
$K_{sp}$	Vetor de onda dos plamons de superfície
$K_p$	Vetor de onda da luz incidente
$\eta$	Coefficiente de aprendizagem
$N$	Número de iterações ou épocas
$n_i$	Índice de Refração do meio $i$ do arranjo multicamadas
$q_j$	Admitância
$r(\lambda)$	Coefficiente de refletividade de Fresnel - WIM
$r(\theta)$	Coefficiente de refletividade de Fresnel - AIM
$S_\lambda$	Sensibilidade do sensor SPR operando no modo WIM
$S_\theta$	Sensibilidade do sensor SPR operando no modo AIM

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	22
<b>1.1</b>	<b>Objetivo</b>	24
<b>1.2</b>	<b>Trabalhos Relacionados</b>	24
<b>1.3</b>	<b>Estrutura do trabalho</b>	28
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b>	29
<b>2.1</b>	<b>Aspectos teóricos sobre SPR</b>	29
2.1.1	Propagação da luz na configuração Kretschmann	30
2.1.2	Análise de Fresnel	33
<b>2.2</b>	<b>Redes Neurais Artificiais</b>	36
2.2.1	Arquiteturas	38
2.2.2	Processos de aprendizagem	38
2.2.3	Perceptrons de Múltiplas Camadas	41
<b>2.3</b>	<b>Maquinas de comitê</b>	44
2.3.1	Máquinas de Comitê de Estrutura Estática	44
2.3.2	Máquinas de Comitê de Estrutura Dinâmica	46
<b>3</b>	<b>METODOLOGIA</b>	48
<b>3.1</b>	<b>Curvas SPR teóricas</b>	49
<b>3.2</b>	<b>Curvas SPR experimentais</b>	50
<b>3.3</b>	<b>Projeto do filtro RNA para o modo WIM</b>	53
<b>3.4</b>	<b>Projeto do filtro RNA para o modo AIM</b>	58
<b>3.5</b>	<b>Coefficiente de Distorção e Comitê Dinâmico</b>	61
<b>3.6</b>	<b>Interface Gráfica</b>	65
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b>	69
<b>4.1</b>	<b>NNSF para Ouro e BK7 Modo WIM</b>	69
4.1.1	Teste estático	69
4.1.2	Teste dinâmico	70
<b>4.2</b>	<b>NNSF Para Ouro e BK7 em Modo AIM</b>	75
4.2.1	Teste estático	76
4.2.2	Teste dinâmico	76
<b>4.3</b>	<b>NNSF Para Alumínio e BK7 em Modo AIM</b>	81

4.3.1	Teste estático . . . . .	82
4.3.2	Teste dinâmico . . . . .	82
<b>4.4</b>	<b>NNSF Para alumínio e BK7 em modo WIM . . . . .</b>	<b>86</b>
4.4.1	Teste estático . . . . .	87
4.4.2	Teste dinâmico . . . . .	88
<b>4.5</b>	<b>NNSF Para Cobre e BK7 em Modo AIM . . . . .</b>	<b>92</b>
4.5.1	Teste estático . . . . .	92
4.5.2	Teste dinâmico . . . . .	93
<b>4.6</b>	<b>NNSF Para Cobre e BK7 em Modo WIM . . . . .</b>	<b>97</b>
4.6.1	Teste estático . . . . .	98
4.6.2	Teste dinâmico . . . . .	99
<b>4.7</b>	<b>NNSF para Prata e BK7 Modo WIM . . . . .</b>	<b>102</b>
4.7.1	Teste estático . . . . .	104
4.7.2	Teste dinâmico . . . . .	105
<b>4.8</b>	<b>Filtro para multicamada de Prata e BK7 em modo AIM . . . . .</b>	<b>107</b>
4.8.1	Teste estático . . . . .	109
4.8.2	Teste dinâmico . . . . .	110
<b>4.9</b>	<b>Resumo . . . . .</b>	<b>113</b>
<b>4.10</b>	<b>Comparação Entre Filtro linear e NNSF . . . . .</b>	<b>114</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS . . . . .</b>	<b>116</b>
	<b>REFERÊNCIAS . . . . .</b>	<b>118</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os sensores baseados na ressonância de plasmons de superfície (SPR, *Surface Plasmons Resonance*) constituem ferramentas tecnológicas aplicadas ao campo da bioanálise, aplicam-se tanto para a detecção de interações moleculares, quanto para a caracterização de meios e interfaces. Em seu funcionamento, um sensor SPR converte variação de índice de refração (IR) em sinais óptico-elétricos, e então, usa-os para monitorar eventos biológicos (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

Nas últimas décadas sensores SPR tornaram-se uma tecnologia madura, onde diversas estruturas foram propostas e desenvolvidas para melhorar a qualidade desse tipo de sensor. A remoção de partes móveis Oliveira *et al.* (2013) tipicamente presente em sensores, o uso de fibra-ópticas como guia de onda no trabalho de Sharma *et al.* (2007), novos protocolos para funcionalização de camadas biológicas em Bieri *et al.* (1999), Sipova e Homola (2013), Ferreira *et al.* (2017) e novas configurações eletrônicas com uso de smartphones Liu *et al.* (2015) são exemplos de avanços que permitiram a melhoria da sensibilidade destes sensores.

Os algoritmos para processamento da resposta SPR são outro fator impactante para o desenvolvimentos de sensores cada vez melhores. A escolha da estratégia para processamento do sinal, a técnica usada para extração de características da curva SPR e supressão de deficiência apresentadas pelo uso de detectores ópticos (sensores de imagem) de baixa qualidade, são situação tratadas por software e incorporados aos novos sensores SPR (SOUSA *et al.*, 2015).

Os aspectos físicos e matemáticos que descrevem e modelam o funcionamento de um sensor SPR são amplamente descritos na literatura Oliveira *et al.* (2015) e Filho (2017). Tipicamente, seu funcionamento consiste em iluminar uma estrutura multicamadas sob certas condições e capturar a luz refletida (sinal), fornecendo assim uma assinatura óptica para essa estrutura. O sinal captado passa por processos de filtragem e então é utilizado para gerar de forma gráfica a ressonância, denominado de curva SPR. A Figura 1, apresenta os elementos constituintes de um sensor SPR. Um feixe de luz com ângulo e comprimento de onda definido emitido através da fonte de luz, incide sob a superfície do sistema multicamadas, parte da energia da luz é dispersada para excitação do fenômeno SPR; então no feixe refletido é observado um sombreamento que pode ser traduzido através da curva SPR. Mediante a variação no índice de refração de cada camada observa-se a mudança de comportamento da curva SPR, portanto cada substância possui uma assinatura ótica.

A fonte de luz afeta a posição de ressonância uma vez que a intensidade e o com-

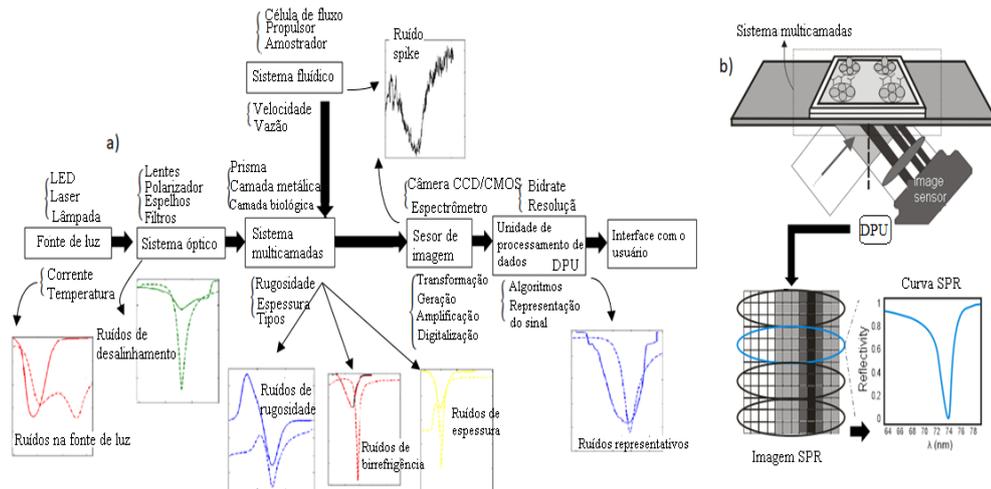


Figura 1 – a) Diagrama de blocos de um sensor SPR. b) Esquema ilustrativos de um sensor SPR. A luz refletida é convertida na curva SPR e seu valor mínimo representa a posição de ressonância.

primeto de onda incidente dependem de ajustes precisos de temperatura e corrente. Com isso, fótons aleatórios podem atingir o sensor de imagem, influenciando o ruído *shot* e o ruído associado a corrente escura (HOMOLA, 2006). Além disso, ruídos desenvolvidos no processo conversão da intensidade de luz em fotoelétrons no detector de imagem (HOMOLA, 2006), intensificadas pela não uniformidade dos fotoreceptores também afetam a resposta. A rugosidade do prisma dificulta a deposição de filme metálico com espessura correta, bem como favorece a ligação de substâncias biológicas não-específicas na superfície, a qual também depende de ajustes no sistema fluídico, acarretando assim curvas SPR menos acentuadas.

A Figura 1a apresenta as principais distorções na curva SPR devido a diferentes fontes de ruídos originários dos processos de instrumentação e manufatura de sensores SPR. As características de uma curva SPR podem atestar a qualidade do sensor. A curva SPR experimental traz consigo todo o conjunto de ruídos presentes no sensor SPR, que consequentemente, afetam o desempenho do mesmo. Em geral, contraste/profundidade, largura (FWHM), assimetria ( $\Delta_s$ ), declividade, posição do valor mínimo, energia e fase são características observadas e monitoradas em uma curva SPR.

Tentativas de quantificar, modelar e compensar as distorções individuais causadas em cada componente, torna-se uma tarefa árdua, com vista a introduzir ainda mais anomalias na resposta SPR (FILHO, 2017). Compensar o ruído de um único componente específico resolve problemas pontuais, o que muitas vezes é insuficiente para obtenção de uma resposta SPR satisfatória.

Desse modo, o presente trabalho tem por objetivo criar um filtro de dados SPR

baseado em rede neural artificial (NNSF - Neural Net SPR Filter) para remoção de ruídos na resposta de sensores SPR. Para isso, foi desenvolvida uma metodologia de filtragem que corrige de forma geral as distorções presentes na curva SPR de um sensor. Com base na mensuração do nível de ruído obtida por uma Matriz de Coeficientes de Distorção (MCD) o filtro assume uma estrutura simples composta por uma RNA ou uma estrutura de máquinas de comitê composta por mais de uma RNA.

Com o NNSF corrige-se distorções geradas pelos principais problemas associados à manufatura de sensores SPR tais como: rugosidade do prisma, oscilações da fonte de luz/ruído *shot*, desalinhamento do acoplamento óptico e espessura da camada metálica.

## 1.1 Objetivo

Definir uma metodologia de filtragem baseada em redes neurais artificiais (RNA) *multilayer perceptron* (MLP) para corrigir a discrepância entre curvas SPR experimentais e teóricas, de modo a drenar os ruídos inerentes a instrumentação do sensor. Definem-se como objetivos específicos deste trabalho:

1. Gerar base de inferências por meio de dados das curvas experimentais;
2. Gerar curvas teóricas com base na análise de Fresnel;
3. Investigar a relação entre as curvas SPR experimentais e ruídos existentes em todo o processo de instrumentação;
4. Quantificar as distorções entre curvas experimentais e teóricas por meio de uma matriz de coeficientes de distorção;
5. Investigar a necessidade por utilizar máquinas de comitê ou estruturas simples;
6. Projetar um filtro baseado em RNA para cada configuração multicamada;
7. Aplicar testes estatísticos via erro médio quadrático, índice de correlação e testes dinâmicos via sensorgramas;
8. Analisar o impacto do filtro sobre os protocolos experimentais;

## 1.2 Trabalhos Relacionados

Esta seção apresenta os trabalhos encontrados, que utilizam técnicas de tratamento de dados para sensores de ressonância de plasmon de superfície. Em suma, os métodos de filtragem agrupam-se em duas tipologias. Na primeira tipologia observam-se métodos gerais

que não adotam RNAs como princípio metodológico. Na segunda tipologia observam métodos de tratamento de dados que utilizam RNAs no processo de filtragem. Ao longo desta seção evidenciam-se lacunas que são fechadas com a utilização do NNSF.

O trabalho de David e Research (2011) aborda a utilização de um filtro adaptativo linear para a filtragem de ruídos de sensorgramas. Para cada regime de um sensorgrama define-se uma parametrização para o filtro linear. O filtro atua como uma mediana, em que a resposta do sensorgrama é suavizada melhorando a relação entre sinal e ruído. O filtro não atua diretamente na correção da curva SPR e deve ser aplicado em cada sensorgrama separadamente. O filtro destina-se a tratar ruídos provenientes da fonte luminosa.

O trabalho de Kuo *et al.* (2020) aborda a aplicação de um filtro passa-banda para um sensor SPR composto por uma grade de difração. Uma fonte luminosa emite um feixe que passa por polarizadores e colimadores e incide na grade, a luz refletida pela grade é aplicada em um filtro passa bandas que divide o feixe de entrada em dois. Cada feixe é captado por um detector diferente, por meio da subtração entre os dois sinais captados tem-se o sinal de ruído que pode ser compensado nas etapas seguintes do processo.

Tobiska e Homola (2004) em seu trabalho desenvolveram uma nova forma de processamento de dados baseado no método de parametrização de modelos e de projeção linear (MPLP). O método consiste em dois passos. No primeiro passo, o espectro de SPR é expresso como uma função de modelo parametrizada e seus parâmetros são determinados usando o ajuste de mínimos quadrados. Na segunda etapa, os parâmetros obtidos são projetados linearmente para mudanças no índice de refração da superfície e / ou volume. conferiu-se maior precisão em relação a métodos convencionais como o do centroide.

Zhan *et al.* (2016) desenvolvem o método RD de processamento de dados utilizando o conceito de média móvel, o método distingue imediatamente sinais fracos durante o processo de experimento e pode exibir um sensorgrama de baixo ruído em tempo real. O método não distorce significativamente os sinais do sensorgrama no experimento e os valores das constantes de associação e dissociação do método RD coincidem essencialmente com os do sensorgrama bruto, todavia apresenta uma relação sinal-ruído maior.

Nenninger *et al.* (2002) investigaram a propagação de ruído através de um algoritmo, constataram que o ruído *shot* era o mais significativo, com isto obtiveram uma expressão relacionando o nível de ruído do detector ao ruído dos dados de saída, tornando-se possível realizar medidas da magnitude e da distribuição do dispositivo de carga acoplada e do ruído do

detector do conjunto de fotodiodo para prever os níveis de ruído observados na saída do sensor.

Sajedian *et al.* (2018) desenvolveram uma rede neural artificial com camadas profundas e aplicaram ao reconhecimento de estruturas plasmônicas. Ao projetar uma rede profunda, foi possível encontrar um modelo que previa a absorção de qualquer estrutura com configuração semelhante. Com este projeto obteve-se uma perda muito baixa na previsão da absorção em comparação com os resultados obtidos da simulação numérica em um tempo muito curto.

Em seu trabalho Lenssen *et al.* (2018) também utiliza rede neural artificial profunda para propor um novo método de processamento de imagens SPR. A detecção e quantificação automática dessas imagens ocorrem de forma específica para partículas de poliestireno de 80 nm. através desta técnica consegue-se SNRs abaixo de um.

Lenssen *et al.* (2018) utiliza uma RNA convolucional como método de processamento de imagens visando a classificação de partículas com base em seu tamanho. Com base na imagem obtida com a interação SPR e uma câmera obtém-se uma distribuição de pixels que passam por um pré-processamento, aplicando-se uma RNA convolucional, que extrai os dados necessários para classificação de uma determinada partícula ou vírus.

Xiaozhong *et al.* (2019) por meio de uma *deep neural*, com 4 camadas ocultas contendo 330 neurônios, desenvolveram um método preditor para um sensor SPR constituído por nanodiscos de ouro, observou-se que a resposta deste sensor é dependente do comprimento e diâmetro de cada nanodisco de ouro, com base em uma amostra de dois mil dados treinou-se a RNA e construiu-se um simulador capaz de prevê a resposta final do sensor com erro relativo abaixo de 5% para 97.5% das previsões.

Patskovsky *et al.* (2010), desenvolve um autofiltro para o sensoriamento de fase do sinal SPR lido. Através da decomposição deste sinal por meio de funções de besel e séries de Fourier, observa-se os harmônicos majoritários, 1 e 2, e então subtrai-se a amplitude e a fase do segundo harmônico pelo primeiro, resultando em um cancelamento de ruídos. Esta aplicação reduz significativamente ruídos oriundos da fonte luminosa.

O NNSF corrige a forma da curva SPR, esta abordagem faz com que todos os sensorgramas, que são extraídos por meio das curvas SPR, sejam filtrados, fechando a lacuna do trabalho de David e Research (2011). As redes neurais que constituem o NNSF baseiam-se em métodos heurísticos, desta forma, não é requerido modelagens de fonte de erros, como na lacuna do trabalho de Tobiska e Homola (2004). O NNSF aplica-se após a captação do sinal no sensor óptico, filtrando ruídos presentes em todas as etapas do processo, sanando as lacunas

Tabela 1 – Trabalhos relacionados versus lacunas

Autor	Enfoque	Lacuna
Nenninger <i>et al.</i> (2002)	Método de processamento de dados	O método é exclusivo para o sensor demonstrado na pesquisa. Trata apenas o ruído shot.
Tobiska e Homola (2004)	Método de processamento de dados MPLP	Cada fonte de erro precisa ser modelada, sendo assim, caso não seja possível descrever um determinado distúrbio o MPLP não consegue reduzir o erro em questão. Um exemplo é demonstrado para a variação da espessura do filme metálico, onde não é possível determinar com precisão esta espessura.
Patskovsky <i>et al.</i> (2010)	Filtro	Metodologia exclusiva para sensores de nano discos.
David e Research (2011)	Filtro linear	Atuação restrita por sensorgrama, não corrigindo os parâmetros das curvas SPR.
Zhan <i>et al.</i> (2016)	Método de processamento de dados RD	Para cada configuração SPR exige um tipo de sintonização manual. Só é aplicável em sensorgramas com baixo nível de distorção.
Sajedian <i>et al.</i> (2018)	Método de projeção	O método não trata os ruídos inerentes a instrumentação, apenas faz uma projeção do sensorgrama que será obtido incluindo ruídos.
Lenssen <i>et al.</i> (2018)	Reconhecimento de imagens	O método atua na melhoria de sensorgramas para experimentos específicos com partículas de 80nm.
Xiaozhong <i>et al.</i> (2019)	Método de projeção	Não realiza a filtragem da resposta SPR apenas estima a resposta de sensor um particular mediante um estímulo.
Kuo <i>et al.</i> (2020)	Filtro passa bandas	Na prática os sinais podem ser assimétricos o que reduz a eficiência do filtro. Não atua sobre distorções provocadas por rugosidade do prisma, ou diferença de espessura da camada metálica experimental e teórica.

dos trabalhos de Kuo *et al.* (2020) e Nenninger *et al.* (2002). Devido a capacidade de adaptação (aprendizagem da RNA) o NNSF pode ser aplicado a diversos tipos de sensores, atuando sobre as lacunas de Nenninger *et al.* (2002), Lenssen *et al.* (2018), Patskovsky *et al.* (2010) e Xiaozhong *et al.* (2019). Devido a utilização de máquinas de comitê, por meio da redução da variância, e consequentemente ganho de capacidade computacional o NNSF aplica-se a grandes e pequenas distorções, diferentemente do trabalho de Zhan *et al.* (2016), que aplica-se para sensorgramas com baixo nível de ruído.

Perante o levantamento realizado, este trabalho propõe tratar os ruídos provenientes do processo de instrumentação de sensores SPR através do uso de redes neurais, que de forma geral irá se adaptar a cada tipo de ruído presente nas curvas SPR, gerando uma resposta inteligente, sem degradar a cinética das reações. Além de fechar as lacunas supracitadas este trabalho atua

sobre:

- Ruído Shot;
- Ruído Spike;
- Ruídos da fonte de luz;
- Ruídos que afetam a largura SPR;
- Ruídos de espessura da camada metálica;
- Ruídos de rugosidade;
- Ruídos que ocasionam o fenômeno da birrefringência;

Os ruídos analisados estão contidos em uma amostra de dados que engloba um conjunto de 8 configurações multicamadas, para os filmes metálicos de ouro, prata, cobre e alumínio. Para cada multicamada tem-se um filtro e cada filtro pode ser composto por uma ou mais RNAs a depender do nível de distorção entre as curvas.

### **1.3 Estrutura do trabalho**

Este trabalho divide-se em capítulos. No primeiro capítulo introduziu-se o tema do trabalho, explicou-se sucintamente como ocorre o fenômeno SPR e foram exibidos alguns aspectos que podem ser melhorados com o uso de redes neurais. No segundo capítulo exibe-se o referencial teórico sobre SPR e redes neurais. No terceiro capítulo demonstram-se os materiais e métodos. No quarto capítulo apresentam-se os resultados com a aplicação do filtro. No último capítulo apresenta-se a conclusão.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

Este capítulo está dividido em seções. Na primeira seção evidenciam-se aspectos teóricos acerca de SPR, tais como: definição, modelo de Fresnel, configurações WIM e AIM. Na segunda seção demonstram-se aspectos teóricos relacionados a RNA, como tipologias, métodos de aprendizagem e aspectos de identificação de sistemas.

### 2.1 Aspectos teóricos sobre SPR

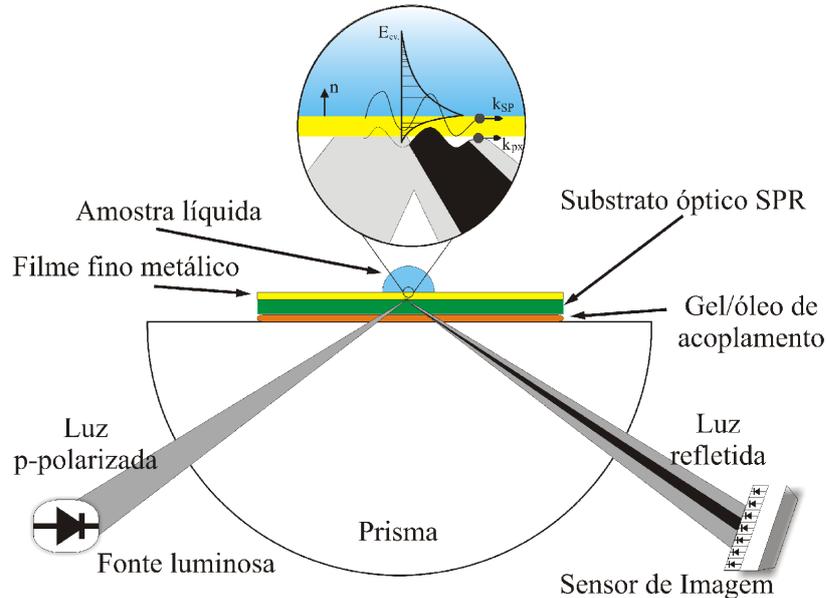
A primeira documentação de ocorrência de plasmons de superfície (SP, *Surface Plasmons*) foi observada por Wood (1902), utilizando uma luz policromática de 500 nm até 630 nm e variando o ângulo de incidência desta luz em uma grade de difração constatou-se o sombreamento em uma determinada faixa de comprimento na onda refletida, o que foi visto como uma anomalia experimental. No entanto Fano (1941) explica o fenômeno, demonstrando que a anomalia foi causada devido as ondas eletromagnéticas se acoplarem a superfície da grade de difração.

A primeira curva SPR pode ser observada no trabalho de Turbadar (1959), ao realizar estudo com filmes finos de metal sobre um substrato, observou-se o decaimento da refletividade. No entanto o fenômeno não foi reconhecido como SPR. Após investigar o fenômeno de reflexão total atenuada, Otto (1968) explica que a falha na reflexão total deve-se a excitação dos plasmons de superfície. A partir desta constatação, Kretschmann e Raether (1968) desenvolvem a configuração Kretschmann, demonstrada na Figura 2.

Na configuração de Kretschmann a camada do dielétrico vem após a camada do filme metálico, já na configuração de Otto o meio dielétrico vem antes da camada de filme metálico, tornando a organização das multicamadas mais complicadas em relação a de Kretschmann na maioria dos casos. Na configuração de Kretschmann vista na Figura 2, uma onda eletromagnética P-polarizada incide sobre um prisma semi-cilíndrico sobre o qual um substrato óptico fino com uma fina camada de metal depositada é acoplado com o uso de um gel, por meio da interação entre a onda eletromagnética e os materiais, observa-se a dispersão de SP, provocando uma atenuação na reflexão, que pode ser lida através do sensor de imagem.

Com base nas teorias citadas anteriormente, define-se que o plásmom é a quantização da oscilação de elétrons livres, podendo ocorrer em um volume ou superfície. SPR é um fenômeno óptico que ocorre comumente mediante excitação dos elétrons livres nos metais de

Figura 2 – Componentes necessários para configuração de Kretschmann, com foco no campo evanescente ( $E_{ev}$ ), vetor de onda de luz incidente ( $K_{px}$ ) e vetor de SP ( $K_{sp}$ )



Fonte: Oliveira (2016).

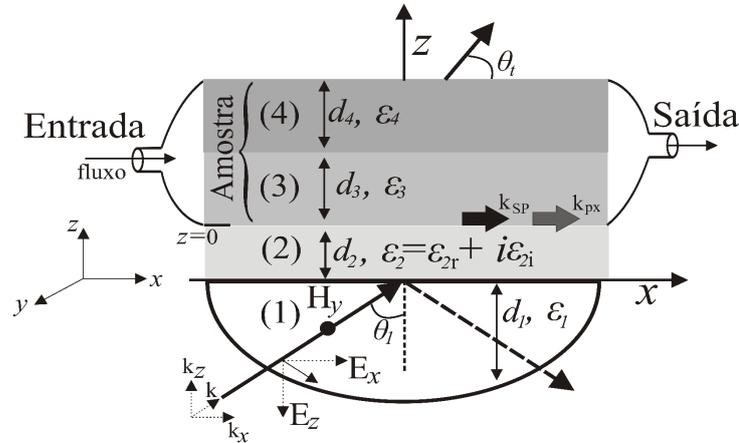
fina espessura (superfície) por meio de fótons. Para que o fenômeno SPR ocorra é necessário que seja respeitada a condição de reflexão total atenuada (ATR, *attenuated total reflection*), isto ocorre quando a energia dos fótons é igual ao nível de energia quântica dos plásmons. Mediante condições bem definidas o campo eletromagnético associado ao feixe de luz é acoplado as oscilações dos elétrons livres, ocorrendo o fenômeno (MOL; FISCHER, 2010).

### 2.1.1 Propagação da luz na configuração Kretschmann

Para entender como ocorre a excitação do fenômeno SPR torna-se necessário analisar a propagação da luz sobre o sensor SPR, a Figura 3 demonstra um sistema com configuração Kretschmann. Para que ocorra a excitação dos plásmons de superfície é necessário que a luz incidente seja uma onda transverso-magnética (p-polarizada), desta forma o campo elétrico possui componentes nos versores paralelo ao plano de incidência e o campo magnético possui componente única e perpendicular ao plano de incidência.

Tomando como base a Figura 3, admitindo que  $z=0$  representa a região de fronteira entre o metal (2) e a amostra (3) e sabendo que a luz deve ser uma onda p-polarizada, o campo elétrico e magnético da onda para  $z>0$  pode ser expresso conforme Equação (2.1). Para  $z<0$  os campos podem ser escritos conforme (2.2). Onde  $k_{x3}$  e  $k_{z3}$  são componentes do vetor de onda no meio 3 na direção de  $x$  e  $z$  respectivamente;  $X$ ,  $Y$  e  $Z$  são os eixos coordenados,  $\omega$  é a frequência

Figura 3 – Sistema com 4 camadas em configuração kretschmann, onde (1) é o substrato óptico-prisma, (2) metal, (3) e (4) representam o analito,  $\vec{k}$  é o vetor de onda, H e E são os campos magnético e elétrico da luz



Fonte: Oliveira (2016).

angular e  $t$  é o instante de tempo da onda no espaço.

$$Z > 0: \begin{cases} \vec{E}_3 = (E_{x3}, 0, E_{z3})e^{i(k_{x3}x+k_{z3}z-\omega t)} \\ \vec{H}_3 = (0, H_{y3}, 0)e^{i(k_{x3}x+k_{z3}z-\omega t)} \end{cases} \quad (2.1)$$

$$Z < 0: \begin{cases} \vec{E}_2 = (E_{x2}, 0, E_{z2})e^{i(k_{x2}x+k_{z2}z-\omega t)} \\ \vec{H}_2 = (0, H_{y2}, 0)e^{i(k_{x2}x+k_{z2}z-\omega t)} \end{cases} \quad (2.2)$$

Através da Lei de Gauss para o vácuo,  $\nabla \cdot \vec{E} = 0$ , encontra-se a relação entre as componentes x e z dos campos elétricos conforme Equação (2.3)

$$\nabla \cdot \vec{E}_2 = \frac{\partial E_{x2}}{\partial x} + \frac{\partial E_{z2}}{\partial z} = 0 \rightarrow E_{x2}k_{x2} + E_{z2}k_{z2} = 0 \rightarrow E_{z2} = \frac{-E_{x2}k_{x2}}{k_{z2}} \therefore E_{z3} = \frac{-E_{x3}k_{x3}}{k_{z3}} \quad (2.3)$$

Para obter a relação do campo magnético com o campo elétrico aplica-se a lei de Faraday para o vácuo,  $\nabla \times \vec{E} = -\mu \frac{\partial \vec{H}}{\partial t}$ , onde  $\mu = \mu_0$  assim obtém-se a relação mostrada na

Equação (2.4). Considerando que  $\hat{i}, \hat{j}, \hat{k}$ , são os versores na direção dos eixos X, Y e Z.

$$\left\{ \begin{array}{l} \nabla \times \vec{E}_2 = \begin{vmatrix} \hat{i} & \hat{j} & \hat{k} \\ \frac{\partial}{\partial x} & \frac{\partial}{\partial y} & \frac{\partial}{\partial z} \\ E_{x2} & 0 & E_{z2} \end{vmatrix} = \frac{\partial E_{z2} \hat{i}}{\partial y} + \frac{\partial E_{x2} \hat{j}}{\partial z} - \frac{\partial E_{z2} \hat{j}}{\partial x} - \frac{\partial E_{x2} \hat{k}}{\partial y} = (E_{x2} k_{z2} - E_{z2} k_{x2}) e^{i(k_{x2} x + k_{z2} z - \omega t)} \hat{j} \dots \\ \vec{H}_2 = \frac{-1}{\mu \omega} E_{x2} k_{z2} - E_{z2} k_{x2} e^{i(k_{x2} x + k_{z2} z - \omega t)} = \frac{-1}{\mu \omega} \frac{E_{x2} k_{z2}^2 + E_{z2} k_{x2}^2}{k_{z2}} = \frac{-1}{\mu \omega} \frac{E_{x2} (k_{z2}^2 + k_{x2}^2)}{k_{z2}} = \frac{-E_{x2} k_2}{\mu \omega k_{z2}} = \frac{-E_{x2} \omega^2 \varepsilon \mu}{\mu \omega} \dots \\ \vec{H}_{y2} = \frac{-\omega E_{x2} \varepsilon_2 \varepsilon_0}{k_{z2}} \therefore \vec{H}_{y3} = \frac{-\omega E_{x3} \varepsilon_3 \varepsilon_0}{k_{z3}} \end{array} \right. \quad (2.4)$$

$\mu_0$  e  $\varepsilon_0$  são a permeabilidade e a permissividade no vácuo respectivamente. Para que o fenômeno SPR ocorra é necessário que na condição de fronteira  $H_{y2}$  seja igual a  $H_{y3}$  e  $E_{x2} = E_{x3}$ , logo para que os SPs existam devem obedecer a Equação (2.5)

$$\frac{\varepsilon_2}{k_2} = \frac{\varepsilon_3}{k_3} \quad (2.5)$$

Aplicando a Equação (2.6) na Equação (2.5), obtém-se o vetor de onda em função das permissividades conforme Equação (2.7). Em que  $k_0(\lambda) = \omega/c = 2\pi/\lambda$ .

$$k_3 = -i\sqrt{k_x^2 - \varepsilon_3 k_0^2} \therefore k_2 = -i\sqrt{k_x^2 - \varepsilon_2 k_0^2} \quad (2.6)$$

$$\left\{ \begin{array}{l} k_x = k_0 \sqrt{\frac{\varepsilon_2 \varepsilon_3}{\varepsilon_2 + \varepsilon_3}} \\ k_{jz} = k_0 \sqrt{\frac{\varepsilon_j^2}{\varepsilon_2 + \varepsilon_3}} \end{array} \right. \quad (2.7)$$

O índice j na equação varia quanto ao meio estudado, para o metal j=2 e para a amostra j=3. A componente imaginária  $K_{jz}$  é utilizada para calcular a profundidade de penetração da onda evanescente nos meios que compõem a interface e  $k_x = K_{SP}$ . Com base na permissividade complexa de um metal o vetor dos plásmons de superfície pode ser definido conforme Equação (2.8).

$$\left\{ \begin{array}{l} k_{SP} = k'_{SP} - ik''_{SP} \\ k'_{SP} \approx k_0 \sqrt{\frac{\varepsilon_{2r} \varepsilon_3}{\varepsilon_{2r} + \varepsilon_3}} \\ k''_{SP} \approx k'_{SP} \frac{\varepsilon_{2i} \varepsilon_3}{2\varepsilon_{2r}(\varepsilon_{2r} + \varepsilon_3)} \end{array} \right. \quad (2.8)$$

Para que ocorra a excitação dos plásmons de superfície é necessário que a componente  $x$  do vetor de onda incidente ( $K_{photon}$ ) ressoe com o vetor de plásmons de superfície, a componente imaginária do vetor SP é desprezada pois para a faixa de comprimento de luz visível esta parcela é aproximadamente zero, a Equação (2.9) exprime a condição de acoplamento dos SPs.

$$k_0 \sqrt{\frac{\epsilon_{2r}(\lambda)\epsilon_3(\lambda)}{\epsilon_{2r}(\lambda) + \epsilon_3(\lambda)}} = \underbrace{k_0 \sqrt{\epsilon_1(\lambda)} \text{sen}(\theta_i)}_{K_{photon}} \quad (2.9)$$

O acoplamento óptico depende da variação do comprimento de onda e da variação do ângulo de incidência, logo, o SPR pode ser obtido para variação do ângulo  $\theta_i$  ou do comprimento de onda ( $\lambda$ ). Mantendo-se o o ângulo constante e variando-se o comprimento de onda obtém-se o modo de Interrogação Espectral (Modo-WIM). Mantendo-se o comprimento de onda constante e variando-se o ângulo obtém-se o modo de Interrogação Angular (Modo-AIM) (OLIVEIRA, 2016).

### 2.1.2 Análise de Fresnel

Na seção anterior, apresentou-se o comportamento das ondas sobre duas camadas de uma configuração Kretschmann para o caso em que ocorre acoplamento óptico entre o vetor de onda da luz incidente e o vetor de onda dos plásmons de superfície. No entanto torna-se necessário o estudo mais detalhado da luz sobre todas as camadas do sistema, primeiramente deve-se observar a variação de amplitude dos campos elétrico e magnético em relação a variação da espessura de cada camada, esta relação foi observada por Abelès (1950), que definiu a matriz contida na Equação (2.10).

$$\begin{vmatrix} H_{yj}^0 \\ E_{xj}^0 \end{vmatrix} = M_j \begin{vmatrix} H_{yj}(Z) \\ -E_{xj}(Z) \end{vmatrix} \quad (2.10)$$

Onde,  $H_{yj}^0$  e  $E_{xj}^0$  são a amplitude para cada  $H_{yj}(Z)$  e  $E_{xj}(Z)$  que variam com a espessura  $Z$ ,  $M_j$  é a matriz de transferência que descreve a propagação da luz do meio  $j$  para o meio  $j + 1$ , que é definida na Equação (2.11); em que  $\beta_j$  é a absorvância e  $q_j$  a admitância,

ambos são definidos na Equação (2.12).

$$M_j = \begin{vmatrix} \cos(\beta_j) & (isen(\beta_j))/q_j \\ -iq_j sen(\beta_j) & \cos(\beta_j) \end{vmatrix} \quad (2.11)$$

$$\begin{cases} q_j = \sqrt{\varepsilon_j^2 - \frac{(\varepsilon_1 sen(\theta_1))^2}{\varepsilon_j^2}} \\ \beta_j = \frac{2\pi}{\lambda} d_j \sqrt{\varepsilon_j^2 - (\varepsilon_1 sen(\theta_1))^2} \end{cases} \quad (2.12)$$

A Equação (2.10) calcula as amplitudes para somente uma região de fronteira, para generalizar este cálculo, define-se a Matriz de transferência total ( $M_{tot}$ ), que é a produtória de  $M_j$ , conforme Equação (2.13); em que  $d_j$  é a espessura,  $\varepsilon$  é a permissividade e  $\theta$  o ângulo de incidência.

$$M_{tot} = \prod_{j=1}^{n-1} \begin{vmatrix} M_{11} & M_{12} \\ M_{21} & M_{22} \end{vmatrix} \quad (2.13)$$

Com base na Equação (2.13) pode-se deduzir os coeficientes de reflexão para um sistema multicamadas composto por n camadas. No modo AIM  $r(\theta)$  e no modo WIM  $r(\lambda)$ . A Equação (2.14) exprime os coeficientes de reflexão para os modos AIM e WIM.

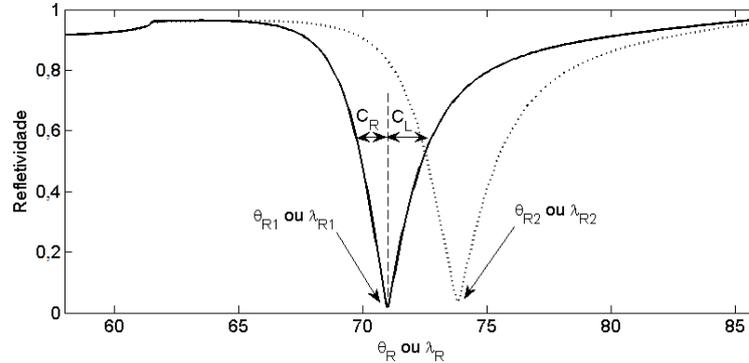
$$r(\theta) \text{ ou } r(\lambda) = \frac{(M_{11} + M_{12}q_n)q_1 - (M_{21} + M_{22})q_n}{(M_{11} + M_{12}q_n)q_1 + (M_{21} + M_{22})q_n} \quad (2.14)$$

Através de sensores ópticos ler-se a refletividade da onda refletida por todas as camadas. No modo AIM varia-se o ângulo, quando ocorre a ressonância para um determinado ângulo a refletividade cai, gerando um ponto mínimo equivalente ao ângulo de ressonância, o mesmo ocorre para o modo WIM, todavia para este modo varia-se o comprimento de onda e observa-se o comprimento de onda de ressonância.

Para cada ângulo (Modo AIM) ou comprimento de onda (Modo WIM) o sensor óptico registra uma refletividade, logo pode-se construir uma curva, denominada curva SPR demonstrada na Figura 4. Dentre os parâmetros mais observados nas curvas SPRs tem-se o  $\lambda_R/\theta_R$ , a largura da curva (FWHM - *full width at half maximum*) =  $C_r + C_l$ , assimetria  $\tau = C_r/C_l$ , profundidade/contraste que é a amplitude mínima da curva SPR, a energia e a fase.

A energia de uma curva SPR é representada geometricamente por meio da área gerada abaixo da mesma. De modo discreto, este parâmetro pode ser calculado através do

Figura 4 – Curva SPR para o modo AIM ou WIM com os respectivos parâmetros classificatórios, uma mudança no material analisado provoca o deslocamento da curva e consequentemente variação nos parâmetros



Fonte: Oliveira (2016).

$\sum_{i=1}^n r(T_o + iT)$ , em que  $T$  representa o valor de amostragem para  $\theta$  ou  $\lambda$ ,  $T_o$  representa o  $\theta$  ou  $\lambda$  inicial e  $r$  representa a refletividade.

O sensorgrama de fase é obtido com a aplicação da transformada discreta de Fourier sobre cada curva SPR. Computacionalmente a transformada discreta de Fourier é representada por meio da transformada rápida de Fourier (FFT - Fast Fourier Transform). Aplicando-se a FFT, obtém-se a representação das curvas no domínio da frequência ( $Y$ ). Com a curva no domínio da frequência, calcula-se o ângulo/fase da componente harmônica par mais significativa ( $p$ ) (2.15). (Pereira *et al.*, 2014).

$$Y = fft(SPR(C, L)) \quad (2.15)$$

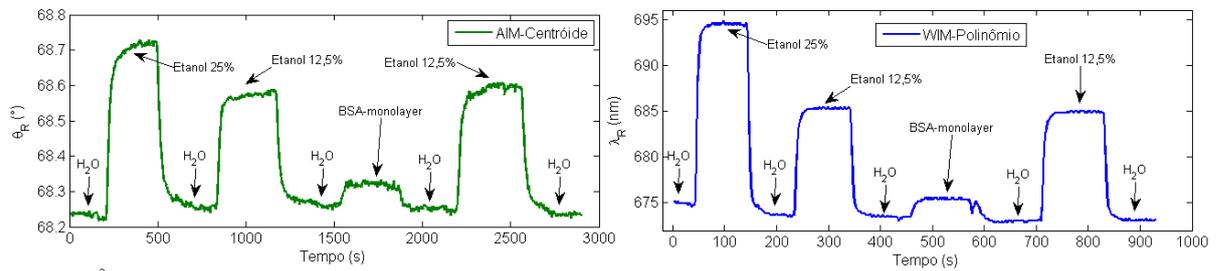
$$p(C) = componente(Y(2))$$

A variação no índice de refração da camada em análise ( $n_3$ ), provoca a mudança nos parâmetros da curva SPR, conforme Equação (2.16), isto significa que variando-se a substância em análise, variam-se os parâmetros da curva SPR, logo cada substância possui uma assinatura óptica, a qual permite identificar a amostra em análise. Em que  $\epsilon_{2r}$  representa a permissividade do meio para um segundo ponto de ressonância.

$$\begin{cases} n_3(\theta_R) = \sqrt{\frac{\epsilon_3(\lambda)(n_1(\lambda)\text{sen}(\theta_R))^2}{\epsilon_{2r}(\lambda) - (n_1(\lambda)\text{sen}(\theta_R))^2}} \\ n_3(\lambda_R) = \sqrt{\sqrt{\epsilon_{3r}^2(\lambda_r) + \epsilon_{3i}(\lambda_r)^2} + \frac{\epsilon_{3r}^2(\lambda_r)}{2}} \end{cases} \quad (2.16)$$

Variando-se a substância na última camada torna-se possível levantar diversas curvas SPRs, através da variação temporal de um parâmetro de interesse pode-se construir sensorgramas que identificam o protocolo experimental, como mostra a Figura 5

Figura 5 – Sensorgrama para o ciclo experimental  $H_2O \rightarrow$  Etanol 25%  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  Etanol 12,5%  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  BSA  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  Etanol 12,5%.



Fonte: Oliveira (2016).

Para verificar a qualidade da multicamada para um determinado ponto de operação ( $\theta$  mínimo ou  $\lambda$  mínimo) verificam-se os aspectos de sensibilidade e detectividade. Em sensores SPR a sensibilidade depende da interação molecular e da massa do analito. A sensibilidade expressa a capacidade do sistema SPR detectar variações de índice de refração na superfície do metal. Para o modo WIM a sensibilidade é dada em função da variação do comprimento de onda sobre a variação no índice de refração da substância. Para o modo AIM a sensibilidade é medida através da variação do ângulo em relação a variação do índice de refração do substância.

A Equação (2.17) resume o aspecto de sensibilidade em torno dos pontos de operação em modo AIM e WIM. Em que  $\lambda_R$  representa o comprimento de onda de ressonância,  $\theta_R$  representa o ângulo de ressonância e  $n_3$  é o índice de refração do analito.

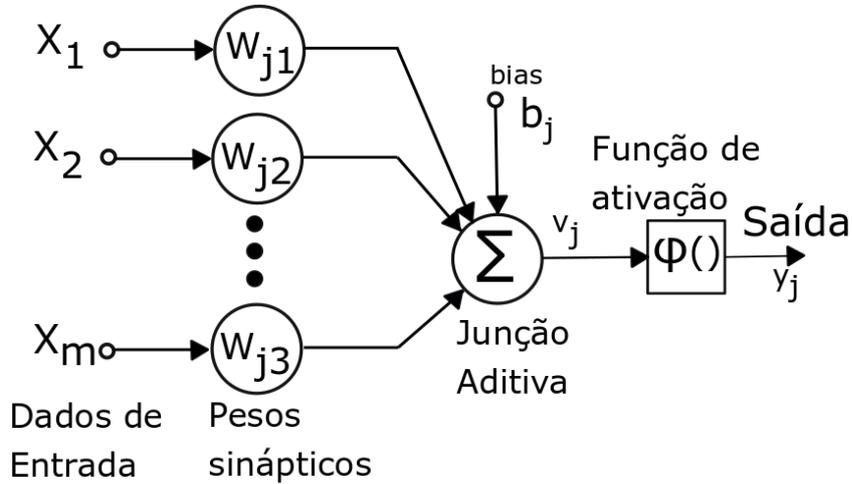
$$S_\lambda = \frac{\Delta \lambda_R}{\Delta n_3}, S_\theta = \frac{\Delta \theta_R}{\Delta n_3} \quad (2.17)$$

## 2.2 Redes Neurais Artificiais

Redes neurais artificiais (RNAs) são modelos computacionais constituídos de unidades de processamento simples, denominados neurônios, que através da capacidade de aprendizagem, armazenam conhecimentos experimentais e os disponibilizam para uso, semelhante ao cérebro humano. Um neurônio artificial propõe desempenhar funções semelhantes aos neurônios biológicos e podem ser representados pelo diagrama de blocos contidos na Figura 6 (HAYKIN, 2001).

Os pesos sinápticos possuem a função de memorizar os conhecimentos experimentais, ponderando a influência dos dados de entrada sobre a saída. O *bias* é um elemento que serve para aumentar o grau de liberdade dos ajustes dos pesos. A junção aditiva soma os estímulos provenientes de cada entrada ponderada por pesos sinápticos e *bias* e envia para a função de

Figura 6 – Modelo de neurônio artificial, em que X representam entradas de estímulos, W são os pesos sinápticos, b representa bias, V é a soma de todas as entradas ponderadas,  $\Phi$  é função de ativação, y é a resposta ao estímulo das entradas



Fonte: Haykin (2001)

ativação que define a saída de um neurônio em termos do campo induzido  $v_j$ . A equação equivalente de um neurônio pode ser expressa pela condição de ativação em função do campo induzido, conforme (2.18)

$$\begin{cases} y_j = \phi(v_j) \\ v_j = \sum_{i=0}^m w_{ji}x_i + b_j \end{cases} \quad (2.18)$$

Pode-se destacar três funções de ativação mais usuais, sendo: função de limiar, Equação (2.19), função linear por partes, Equação (2.20) e função sigmoide, Equação (2.21).

$$\phi(v) = \begin{cases} 1 & \text{se } v \geq 0 \\ 0 & \text{se } v < 0 \end{cases} \quad (2.19)$$

$$\phi(v) = \begin{cases} 1 & \text{se } v \geq \frac{1}{2} \\ v & \text{se } \frac{1}{2} \leq v \leq \frac{-1}{2} \\ 0 & \text{se } v \leq \frac{-1}{2} \end{cases} \quad (2.20)$$

$$\phi(v) = \frac{1}{1 + e^{-av}} \quad (2.21)$$

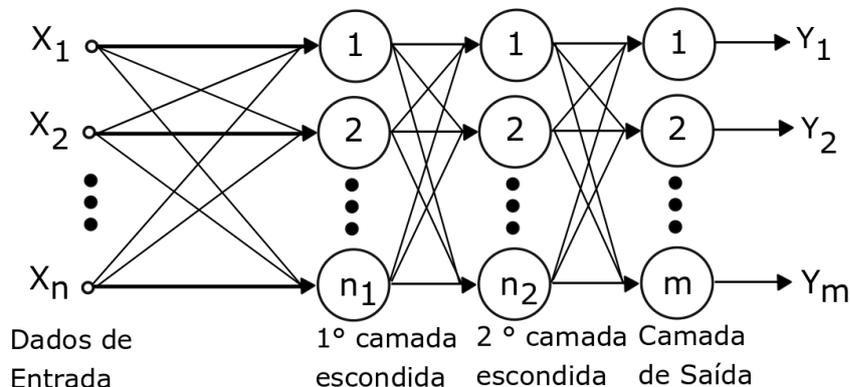
### 2.2.1 Arquiteturas

A arquitetura de uma RNA remete a como os neurônios estão estruturados, uma RNA pode possuir uma ou mais camadas, e as sinapse podem se propagar adiante ou por realimentação. Dependendo do número de camadas e a propagação dos sinais define-se a arquitetura. Dentre as principais arquiteturas destacam-se as redes alimentadas com camadas múltiplas (HAYKIN, 2001).

- Redes Alimentadas Diretamente com Múltiplas Camadas

Compõem a segunda classe de redes alimentadas adiante, caracterizam-se por apresentarem mais de uma camada de nós computacionais ou neurônios ocultos. Devido ao maior número de conexões sinápticas e dimensão extra de interações neurais, estas RNAs aplicam-se a modelos que exijam maior capacidade de aprendizagem. O sentido dos sinais se dá dos nós de fonte para as saídas como mostra a Figura 7 (HAYKIN, 2001).

Figura 7 – Exemplo de rede alimentada diretamente com Múltiplas camadas, com  $x_n$  nós de fonte,  $n_1$  nós computacionais na primeira camada escondida e  $n_2$  saídas



Fonte: SILVA *et al.* (2010)

### 2.2.2 Processos de aprendizagem

A aprendizagem de uma RNA está relacionada a sintonização dos pesos e bias de cada neurônio. A cada época ou iteração até que o critério de parada seja satisfeito, a RNA é estimulada por um ambiente externo. Os pesos e bias são reajustados modificando a resposta ao ambiente. O tipo de aprendizagem se classifica mediante a forma pela qual se modificam os pesos e bias, a seguir definem-se os métodos de aprendizagem mais usuais.

- Aprendizagem por correção do erro

Supondo  $D_k(n)$  como o valor desejado na saída de um neurônio  $k$  para um instante discreto

de tempo  $n$ , e  $y_k$  o valor obtido na saída do neurônio, pode-se definir o erro gerado conforme Equação (2.22), (HAYKIN, 2001).

$$e_k(n) = D_k(n) - y_k(n) \quad (2.22)$$

Com base no erro gerado, um mecanismo de correção de pesos sinápticos é acionado objetivando aproximar a resposta obtida á resposta desejada. Este objetivo é alcançado mediante minimização da função de custo ou energia do erro definida por (2.23). Os pesos sinápticos são corrigidos através da regra delta onde a variação que deve ser realizada em cada peso é dada por (2.24) e então o peso é corrigido por (2.25).

$$\varepsilon(n) = \frac{e_k^2(n)}{2} \quad (2.23)$$

$$\Delta \omega_{kj}(n) = \eta e_k(n) x_j(n) \quad (2.24)$$

$$\omega_{kj}(n+1) = \omega_{kj}(n) + \Delta \omega_{kj}(n) \quad (2.25)$$

em que  $\eta$  é a taxa de aprendizagem, esta constante influencia na velocidade de convergência e *overfit*, devendo ser sintonizada para cada problema particular.

- Aprendizagem baseada em memória

Cada conjunto de entradas possui uma saída desejada previamente definida, com base em um banco de dados  $[x_i, D_i]$ . As experiências passadas que foram classificadas corretamente são armazenadas em uma memória. Ao inserir um novo vetor de entrada  $X_{teste}$ , a RNA busca no banco de dados um vetor de entrada  $X_N$  que é o mais próximo ao vetor  $X_{teste}$ , seguindo a Equação (2.26) de distâncias euclidianas (HAYKIN, 2001).

$$\min d(x_i, X_{teste}) = d(X_N, X_{teste}) \quad (2.26)$$

A Equação (2.26) mostra o método de procura por vizinho mais próximo, todavia cada algoritmo pode ter uma forma de busca específica, bem como de correção de pesos, como o

método de classificação disposto nas rede de função de base radial. Uma base ou conjunto de Funções radiais, investigam a distância de um valor de entrada ao valor desejado, o algoritmo de aprendizagem busca sintonizar estas funções. O conjunto de funções é combinado de forma linear pelo neurônio de saída, calculando-se o valor dos pesos de cada função de base radial.

- Aprendizagem Hebbiana

A aprendizagem Hebbiana é baseada no postulado de Hebb (1949), propondo que o peso de uma conexão sináptica deve ser ajustado se houver sincronismo entre as atividades do neurônio pré-sináptico e do neurônio pós-sináptico. Assim pode-se definir a Equação (2.27).

$$\Delta \omega_{ij}(n) = \eta y_i(n) x_j(n) \quad (2.27)$$

Onde, a mudança do peso sináptico  $\Delta \omega_{ij}(n)$ , é proporcional ao valor do neurônio pós-sináptico  $y_i(n)$  e ao valor do neurônio pré-sináptico  $x_j(n)$ . O peso é reajustado conforme Equação (2.25).

- Aprendizagem competitiva

Este tipo de aprendizagem baseia-se na ativação de um único neurônio de saída dentre vários. Para caracterizar uma aprendizagem como competitiva segundo Rumelhart e Zispser (1985) é necessário seguir três pontos:

1. Um conjunto de neurônios que são todos iguais entre si, exceto pelos pesos sinápticos distribuídos aleatoriamente, e que por isso respondem diferentemente aos padrões de entrada;
2. Um limite imposto sobre a força de cada neurônio;
3. Um mecanismo que permite que os neurônios compitam, de forma que somente um neurônio de saída, esteja ativo em um determinado instante.

O neurônio vencedor possui campo local induzido maior que todos os outros neurônios da camada de saída, assim pode-se escrever a Equação (2.28)

$$y_k = \begin{cases} 1 & \text{se } v_k > v_j \rightarrow j \neq k \\ 0 & \text{caso contrario} \end{cases} \quad (2.28)$$

Seja  $\omega_{kj}$  que conecta o nó sensorial  $j$  ao neurônio  $k$  e que o somatório de todos os pesos seja constante, ou seja o valor de um peso é alocado a outro, conforme Equação (2.29)

$$\sum \omega_{kj} = 1 \quad (2.29)$$

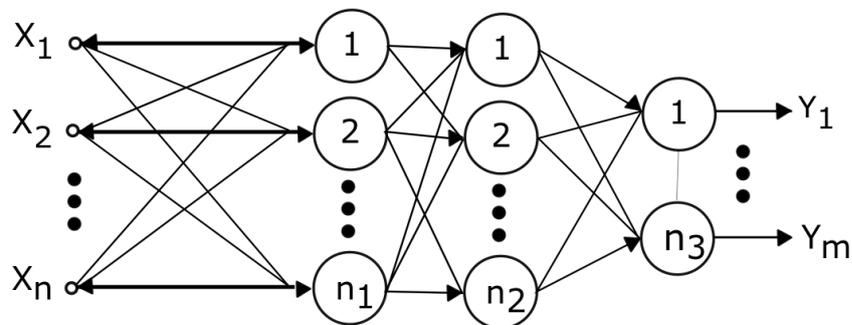
Então um neurônio aprende deslocando pesos dos nós de entrada inativos para ativos, conforme Equação (2.30)

$$\Delta \omega_{kj} = \begin{cases} \eta(x_j - \omega_{kj}) & \text{Se } k \text{ ganhar} \\ 0 & \text{Se } k \text{ perder} \end{cases} \quad (2.30)$$

### 2.2.3 Perceptrons de Múltiplas Camadas

O *Perceptron* surgiu com o propósito de implementar um modelo computacional inspirado na retina, uma RNA perceptron de múltiplas camadas (PMC ou *MLP-Multi Layer perceptron*), é constituída por no mínimo duas camadas escondidas, com neurônios cuja função de ativação é não linear, por exemplo sigmoide, a Figura 8 exhibe o diagrama de uma RNA PMC. Possui arquitetura baseada em redes alimentadas diretamente (*Feedforward*) com multiplas camadas, o algoritmo de aprendizagem aplicado a esta rede nomeia-se *Backpropagation* e será demonstrado na próxima seção (SILVA *et al.*, 2010).

Figura 8 – Exemplo de RNA PMC, com  $x_n$  nós de fonte,  $n_1$   $n_2$  nós computacionais na primeira e segunda camada escondida, respectivamente, e  $n_2$  saídas



Fonte: SILVA *et al.* (2010)

Estas redes funcionam em duas etapas, na primeira etapa (*forward*) o fluxo de sinais segue da camada de entradas para a camada de saídas, fornecendo parâmetros mediante estímulos externos, na segunda etapa (*backward*) os pesos e bias são ajustados mediante o erro gerado de acordo com a Equação (2.22).

- Aprendizagem *Backpropagation*

O algoritmo de aprendizagem *backpropagation* busca corrigir os pesos da RNA MLP da camada de saída para a camada de entrada. Este método baseia-se no método delta generalizado. O erro médio quadrado (EMQ) é um dos parâmetros estatísticos mais utilizados

para mensurar o nível de aprendizagem deste tipo de rede e está definido na Equação (2.31).

$$\xi(n) = \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N \varepsilon(n) \quad (2.31)$$

a parcela de correção do peso sináptico  $\Delta \omega_{ji}(n)$  é proporcional à derivada parcial

$$\frac{\partial \varepsilon(n)}{\partial \omega_{ji}(n)}$$

Expandido esta derivada parcial através da regra da cadeia tem-se (2.32)

$$\frac{\partial \varepsilon(n)}{\partial \omega_{ji}(n)} = \frac{\partial \varepsilon(n)}{\partial e_j(n)} \frac{\partial e_j(n)}{\partial y_j(n)} \frac{\partial y_j(n)}{\partial v_j(n)} \frac{\partial v_j(n)}{\partial \omega_{ji}(n)} \quad (2.32)$$

Aplicando as derivadas parciais nas equações (2.23), (2.22), (2.18), obtém-se as expressões contidas em (2.33)

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial \varepsilon(n)}{\partial e_j(n)} = e_j(n) \\ \frac{\partial e_j(n)}{\partial y_j(n)} = -1 \\ \frac{\partial y_j(n)}{\partial v_j(n)} = \phi'(v_j(n)) \\ \frac{\partial v_j(n)}{\partial \omega_{ji}(n)} = y_i(n) \end{array} \right. \quad (2.33)$$

Logo a derivada parcial (2.32) resulta em (2.34)

$$\frac{\partial \varepsilon(n)}{\partial \omega_{ji}(n)} = -e_j(n) \phi'(v_j(n)) y_i(n) \quad (2.34)$$

$\Delta \omega_{ji}(n)$  pode ser encontrado aplicando a regra delta generalizada que é dada por (2.35)

$$\Delta \omega_{ji}(n) = -\eta \frac{\partial \varepsilon(n)}{\partial \omega_{ji}(n)} \quad (2.35)$$

Aplicando (2.34) em (2.35) obtém-se (2.36)

$$\Delta \omega_{ji}(n) = \eta \delta_j(n) y_i(n) \quad (2.36)$$

onde  $\delta_j(n)$  é o gradiente local definido por (2.37)

$$\delta_j(n) = e_j(n)\phi'(v_j(n)) \quad (2.37)$$

O ajuste do peso externo é dado por (2.38)

$$\omega_{ji}(t+1) = \omega_{ji}(t) + \eta \delta_j(n)y_i(n) \quad (2.38)$$

Todavia para o ajuste dos pesos internos não pode-se determinar  $e_j(n)$ , pois não existe um valor desejado nas camadas internas, assim deve-se calcular o gradiente local dos neurônios ocultos conforme os próximos passos, o gradiente em um neurônio oculto pode ser dado por (2.39)

$$\delta_j(n) = -\frac{\partial \mathcal{E}(n)}{\partial y_j(n)} \frac{\partial y_j(n)}{\partial v_j(n)} \quad (2.39)$$

$$\frac{\partial \mathcal{E}(n)}{\partial y_j(n)} = e_k(n) \frac{\partial e_k(n)}{\partial v_k(n)} \frac{\partial v_k(n)}{\partial y_j(n)} \quad (2.40)$$

O índice k se refere a um neurônio de saída e o índice j se refere a um neurônio da camada oculta, uma vez que  $e_k(n) = d_k(n) - \Phi(v_k(n))$  e  $v_k(n) = \sum_{j=0}^m \omega_{kj}(n)y_j(n)$ .

$$e_k(n) = D_k(n) - y_k(n) = D_k(n) - \phi_k(v_k(n)) \therefore \frac{\partial e_k(n)}{\partial v_k(n)} = -\phi'_k(v_k(n)) \quad (2.41)$$

$$v_k(n) = \sum_{j=0}^m \omega_{kj}(n)y_j(n) \therefore \frac{\partial v_k(n)}{\partial y_j(n)} = \omega_{kj}(n) \quad (2.42)$$

Substituindo (2.42) e (2.41) em (2.40) tem-se (2.43) e conseqüentemente (2.44)

$$\frac{\partial \mathcal{E}(n)}{\partial y_j(n)} = -\sum_k e_k(n)\phi'_k(v_k(n))\omega_{kj}(n) \quad (2.43)$$

$$\frac{\partial \mathcal{E}(n)}{\partial y_j(n)} = -\sum_k \delta_k(n)\omega_{kj}(n) \quad (2.44)$$

Substituindo (2.44) em (2.39) chega-se a expressão do gradiente local  $\delta_k(j)$  para um neurônio oculto  $j$ , conforme Equação (2.45)

$$\frac{\partial \varepsilon(n)}{\partial \delta_j(n)} = \phi'_j(v_j(n)) \sum_k \delta_k(n) \omega_{kj}(n) \quad (2.45)$$

Através das equações deduzidas, consegue-se treinar uma RNA MLP, calculando-se primeiramente os gradientes locais e em seguida os pesos e bias da camada de saída até a camada de entrada, através do algoritmo *backpropagation*.

### 2.3 Máquinas de comitê

Em diversos problemas computacionais, o espaço de busca é demasiadamente extenso, exigindo um dispendioso custo computacional para encontrar soluções generalista. Como forma de otimização pode-se dividir o espaço para que se tenham soluções otimizadas para cada subespaço, esta técnica é convencionalmente chamada de dividir para conquistar.

Com base no princípio de dividir para conquistar, uma tarefa complexa é dividida em um conjunto de tarefas simples, ao final o conjunto de tarefas simples são combinadas, compondo uma solução para a tarefa complexa. No âmbito de aprendizagem supervisionada o conjunto de dados é dividido em subespaços, cada subespaço deve ser compreendido por seu respectivo especialista, a composição final de todos os especialistas recebe a designação de máquina de comitê. (HAYKIN, 2001)

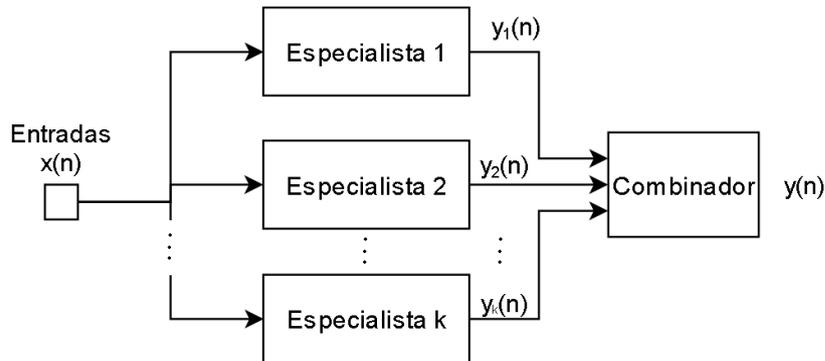
A organização de uma RNA baseada no princípio de máquina de comitê dar-se por meio de camadas primárias perceptrons, seguidas por um comitê que irá julgar a influência de cada perceptron ou especialista. O comitê deve ser capaz de condensar a resposta de todos os especialistas, de modo a fornecer uma solução global para cada ocasião. As máquinas de comitê classificam-se em duas estruturas, sendo estrutura dinâmica e estrutura estática. Para este trabalho emprega-se uma máquina de comitê de estrutura dinâmica.

#### 2.3.1 Máquinas de Comitê de Estrutura Estática

Máquinas de comitê de estrutura estática são utilizadas quando a entrada da RNA não influencia na tomada de decisões do comitê. De acordo com a votação do comitê tem-se duas classificações via *Ensemble Averaging* e *Boosting*.

*Ensemble Averaging* é aplicada quando a saída de diferentes especialistas são combinadas linearmente, para produzir uma saída geral. Neste caso o comitê julga a participação de cada especialista de forma constante e independente do vetor de entradas, conforme Figura 9.

Figura 9 – Diagrama de blocos de uma máquina de comitê estático ensemble-averaging



Fonte: Adaptado de Haykin (2001)

Cada especialista converge para uma resposta local e o combinador fornece a resposta global. O risco de *overfitting* aumenta proporcionalmente ao número de especialistas, desta forma existem diversos parâmetros estatísticos, tais como variância, esperança, erro médio quadrático e desvio padrão, que podem ser utilizados para definir a melhor constituição do comitê.

Por meio do dilema de viés-variância torna-se possível sintonizar o número de especialistas suficiente para corrigir problemas de *underfitting* e *overfitting*. Outra constatação que pode ser tomada com a aplicação deste dilema é que o viés de uma RNA simples, que seja equivalente em parâmetros a uma RNA com *ensemble-averaging*, é o mesmo ((2.46)), contudo a variância para *ensemble-averaging* torna-se menor ((2.47)).

$$B_{\alpha'}(F_1(x)) = (E_{\alpha}[F(x)] - E[D[X=x]])^2 = B_{\alpha}(F(x)) \quad (2.46)$$

$$V_{\alpha'}(F_1(x)) \leq V_{\alpha}(F(x)) \quad (2.47)$$

Em que a saída de uma RNA simples é comparada a uma função  $F(x)$ .  $x$  é o vetor de entrada utilizado durante o treinamento, contido em um espaço  $\alpha$ .  $\mathbf{X}$  é o conjunto de vetores aleatórios que podem ser aplicados como entrada, que pode está contido em um espaço maior  $\alpha'$ . O índice 1 refere-se a uma RNA com *ensemble-averaging*.  $B_{\alpha'}(F_1(x))$  é o viés ou bias sobre a saída de uma RNA com *ensemble-averaging*.  $D$  é o valor desejado na saída da RNA perante

uma entrada  $\mathbf{X}$ . A esperança matemática  $E_{\alpha}[F(x)]$  por hipótese é igual a  $E_{\alpha'}[F(x)]$ , desta forma observa-se a igualdade. A variância  $V_{\alpha}(F_1(x)) = E_{\alpha}[(F_1(x) - E_{\alpha}[F_1(x)])^2]$ .

O *overfitting* está relacionado com um baixo valor de erro quadrático durante o treinamento, todavia com um alto valor de erro quadrático de teste, remetendo-se a um baixo viés e uma alta variância. Quanto ao *underfitting*, baseia-se por um grande erro de treinamento e um grande erro de teste, com alto viés e uma alta variância. Conclui-se que a máquina de comitê estático pode ser aplicada para reduzir a variância, reduzindo o erro médio quadrático de teste.

A máquina de comitê estática com modelo *Boosting*, assemelha-se em arquitetura com o modelo *ensemble-averaging*, contudo, no modelo *Boosting*, cada especialista é treinado com dados de entradas diferentes, para o modelo *ensemble-averaging*, os especialistas são treinados com os mesmos dados. O modelo *Boosting* é utilizado para agregar conhecimento para algoritmos de treinamento simples.

### 2.3.2 Máquinas de Comitê de Estrutura Dinâmica

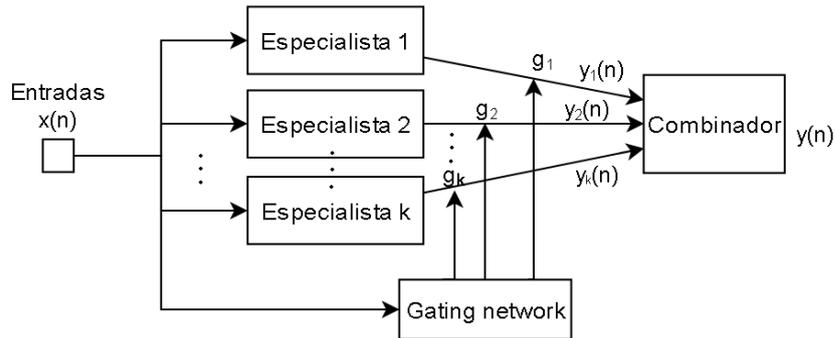
As máquinas de comitê de estrutura dinâmica são definidas quando utiliza-se o sinal de entrada pra definir o mecanismo de atuação do comitê, assim, cada entrada influencia na ponderação do sinal de saída de cada especialista. Pode-se destacar dois tipos de estruturas dinâmicas, sendo, mistura de especialistas e mistura hierárquica de especialistas.

A mistura de especialistas é feita com base em um *gating network*, que pode ser definido como uma rede de camada única que de forma não linear ajusta os pesos após a saída de cada especialista com base no vetor de entradas. A Figura 10, demonstra a arquitetura desta estrutura, a função  $g_k$  é uma função não linear, e  $u_k$  é o produto interno do vetor de entradas por um vetor de pesos. A função de ativação  $g_k$ , pode ser definida como uma transformação exponencial normalizada conforme Equação (2.48).

$$g_k = \frac{\exp(u_k)}{\sum_{j=1}^k \exp(u_j)} \quad (2.48)$$

A utilização da função de ativação exige que  $0 \leq g_k \leq 1$  e  $\sum_{k=1}^k g_k = 1$  sejam satisfeitas. Assim, a resposta geral do comitê será dada por (2.49), justificando as exigências, uma vez que para  $g_k > 1$  a resposta final torna-se maior que a resposta do especialista, concluindo-se que o

Figura 10 – Diagrama de blocos de uma máquina de comitê dinâmico com mistura de especialistas



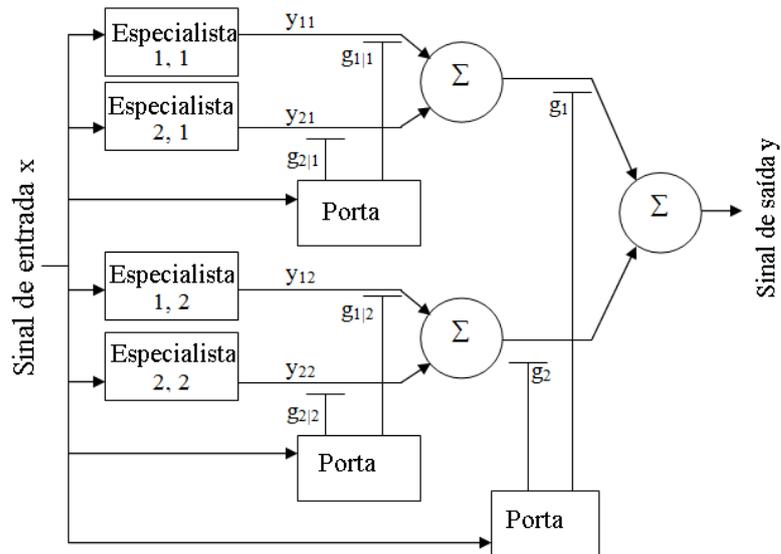
Fonte: Adaptado de Haykin (2001)

viés dos especialistas devem ser mantidos.

$$y = \sum_{k=1}^k g_k y_k \tag{2.49}$$

O modelo de mistura hierárquico é aplicável quando se tem mais de um *gating network*, assim deve-se definir um conjunto de hierarquias entre *gating networks*, de modo a produzir uma saída desejada, um exemplo genérico deste modelo pode ser visto na Figura 11, que contém dois níveis de hierarquias ou duas camadas de *gating networks*.

Figura 11 – Diagrama de blocos de uma máquina de comitê dinâmico com mistura hierárquica de especialistas. As saídas dos especialistas (1,1) e (2,1) são combinadas por g11 e g21, produzindo uma saída g1 que é combinada com a saída g2, produzindo uma saída y geral



Fonte: Adaptado de Haykin (2001)

### 3 METODOLOGIA

Os dados experimentais coletados para montar a base de inferências foram obtidos por meio do sensor SPR baseado em prisma polimérico para aplicações biológicas, com a estrutura multicamadas em configuração Kretschmann. Investigou-se um conjunto de 8 configurações multicamadas, para a camada de polímero adotou-se BK7 (vidro), e para o filme fino metálico foram utilizados os metais ouro, prata, cobre e alumínio, nos modos de interrogação angular e interrogação espectral, constituindo-se 8 configurações possíveis. As substâncias utilizadas na camada de análise variam de acordo com o experimento realizado. As principais substâncias utilizadas nos experimentos foram água (H<sub>2</sub>O), solução tampão fosfato salino (*PBS - phosphate buffered saline*), proteína denominada Albumina de Soro Bovino (*BSA - bovine serum albumin*), hipoclorito (Hipo), etanol diluído em água em concentrações de 3.1, 6.5, 12.5 e 25 % (ET 3.1%, ET 6.5%, ET 12.5%, ET 25%).

Para o projeto do NNSF (RNA SPR Filtro) um conjunto de curvas SPR teóricas e experimentais, para diferentes substâncias, são utilizadas para o treinamento da rede neural artificial. O NNSF atua com base em um modelo de regressão heurístico. Como ilustrado na Figura 12a, uma matriz de coeficientes de distorção (DCM) é calculada para verificar o nível de distorção entre as curvas, e assim, quantificar a distorção presente na curva SPR. Com base na DCM, o NNSF pode atuar com i) uma única rede neural artificial (RNA) Multilayer Perceptron (MLP) ou ii) como um comitê dinâmico constituído por mais de uma ANN MLP. A saída do filtro é uma curva SPR filtrada nos moldes de uma curva SPR teórica (ver Fig 12b).

Para cada configuração multicamada e cada modo (AIM e WIM) define-se um protocolo experimental, que é dado por um conjunto de 4 substâncias que serão analisadas em cada experimento. Com a execução do experimento obtém-se curvas experimentais que variam de acordo com o experimento, dentre as quais seleciona-se um conjunto de curvas experimentais, que representam a amostra, em seguida compara-se o conjunto de curvas experimentais com curvas teóricas.

Em suma, as curvas teóricas deveriam ser iguais as curvas experimentais, todavia devido a fontes de ruídos inerentes a instrumentação como, rugosidade na camada metálica, variações experimentais, variações de corrente e temperatura na fonte luminosa, a resposta experimental se distancia da teórica. A esta discrepância atribui-se a denominação de ruído.

Utilizando-se o conjunto de curvas experimentais e teóricas foram projetadas RNAs MLPs que atuam como filtro, que buscam eliminar os ruídos observados em todas as curvas de

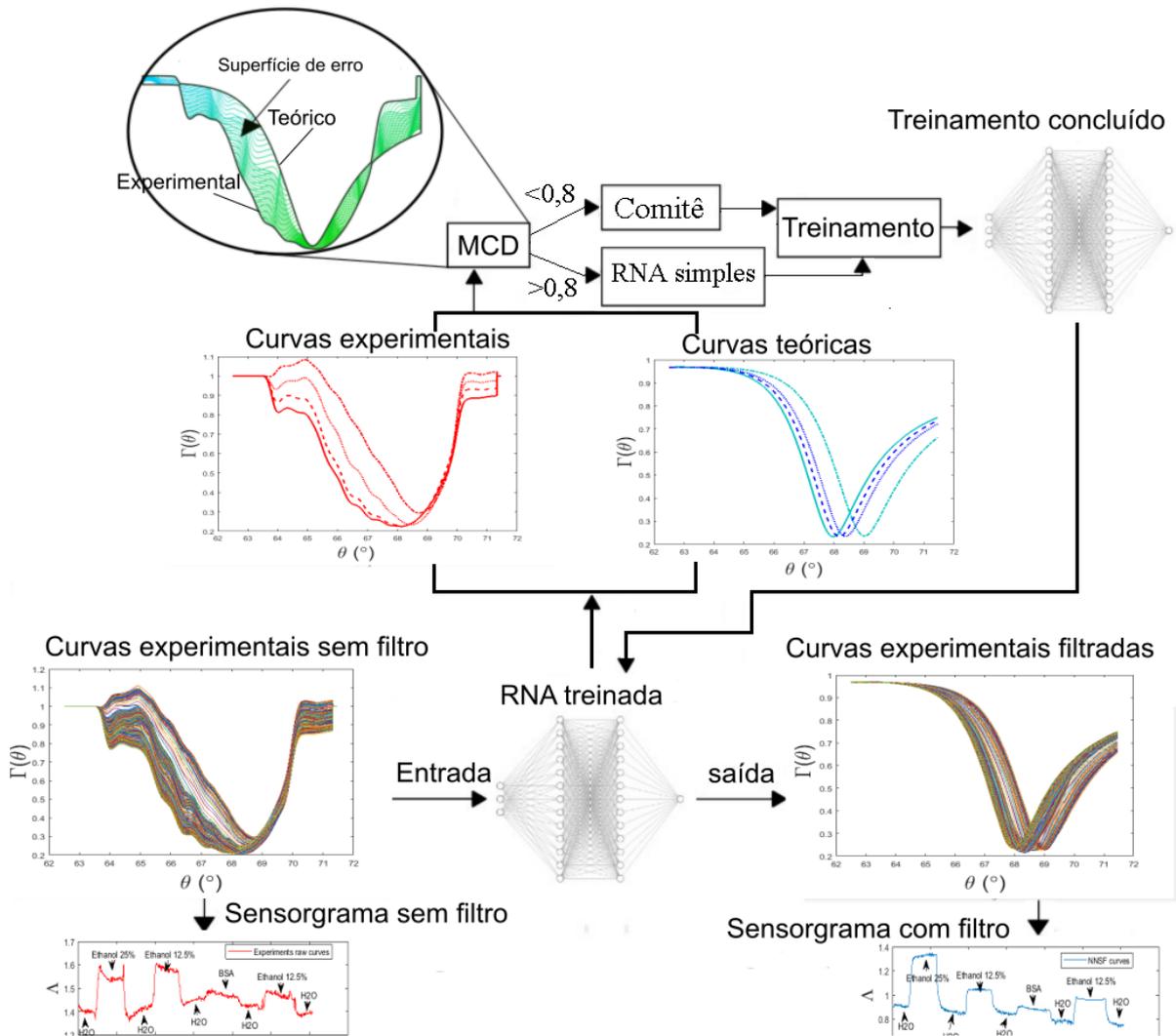


Figura 12 – Filtro NNSF: as distorções entre as curvas são computadas e a estrutura do NNSF é escolhida. Com o filtro concluído aplicam-se as curvas experimentais na entrada do NNSF e obtém-se as curvas filtradas

treinamento, aproximando a resposta experimental à resposta teórica. A seguir descrevem-se como foram obtidas as curvas teóricas, experimentais e o projeto da RNA.

### 3.1 Curvas SPR teóricas

A interação luz-matéria computada por um sensor SPR pode ser obtida através da Análise de Fresnel (AF) vista na seção 2.1.2. A ressonância é então obtida variando as condições de acoplamento entre um feixe de luz e os plásmons de superfície.

Através da Equação 2.14 pode-se plotar a curva SPR que é expressa pelo gráfico refletividade x ângulo para o modo AIM e refletividade x comprimento de onda para o modo WIM. Tomando como exemplo a estrutura Bk7/Au, no modo WIM fixa-se o ângulo em  $68^\circ$  (ver

geometria do PPBIO) e variando-se o índice de refração da terceira camada conforme o analito (água, BSA, PBS, hipoclorito) obtém-se quatro curvas SPR teóricas WIM definidas na Figura 13.

Para a mesma estrutura (BK7/Au) no modo AIM, fixa-se o comprimento de onda em 716 nm e variando-se o índice de refração para cada substância tem-se quatro curvas SPR teóricas AIM definidas na Figura 14

Figura 13 – Curvas SPR teóricas WIM do sensor com prisma de BK7/Au (50 nm) para  $H_2O$ , PBS, BSA e Hipo.

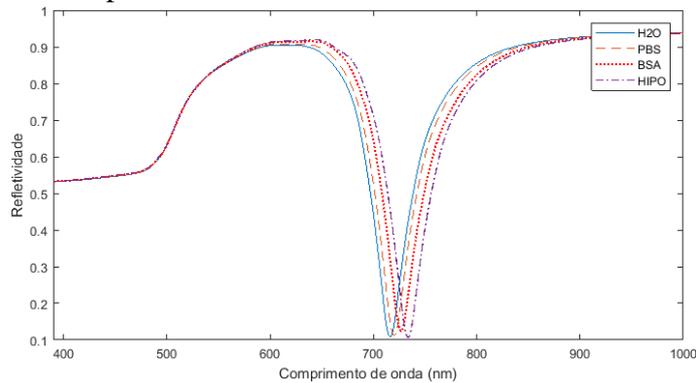
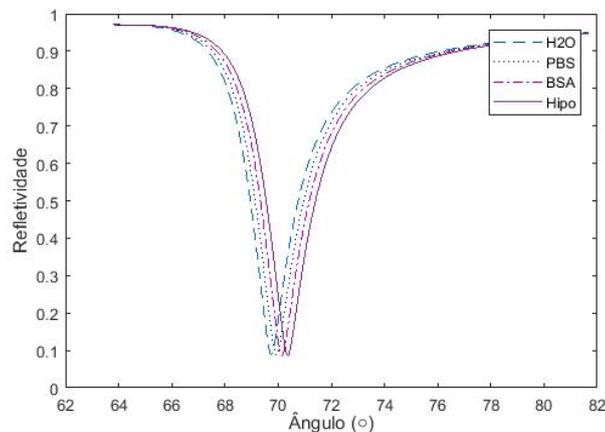


Figura 14 – Curvas SPR teóricas AIM do sensor com prisma de BK7/Au (50 nm) para  $H_2O$ , PBS, BSA e Hipo.

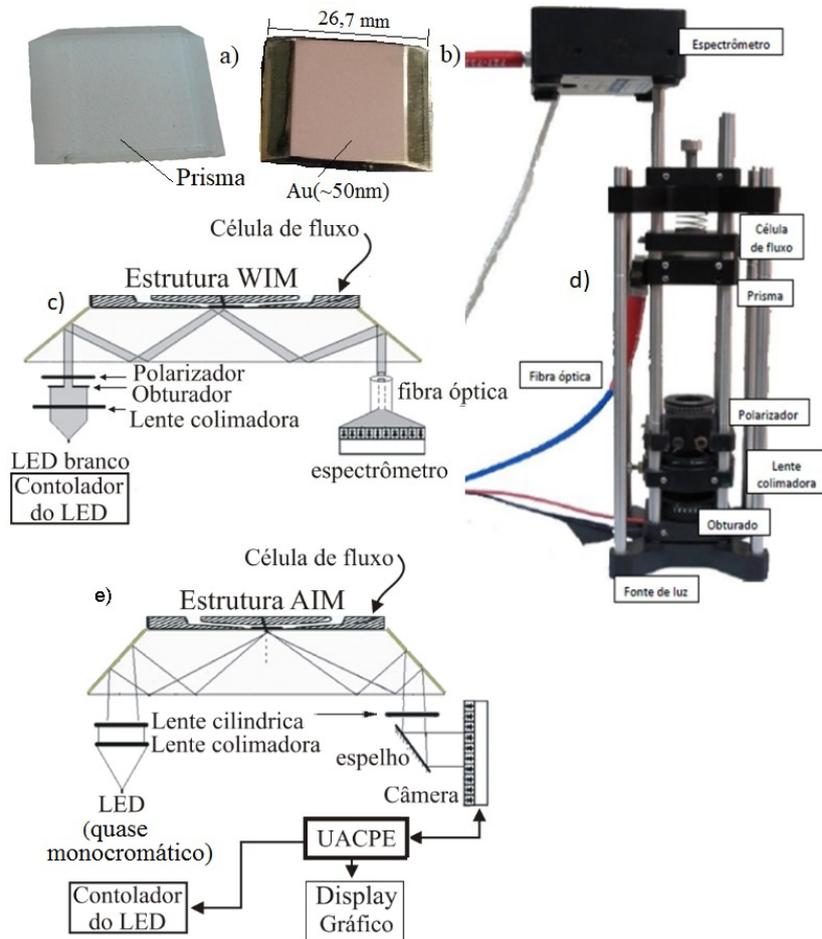


### 3.2 Curvas SPR experimentais

Os dados utilizados para construir a base de inferências foram obtidos por meio do sensor SPR baseado no PPBIO (Prisma Polimérico para aplicação BIOLógicas) (Moreira *et al.*, 2009). Devido a sua geometria trapezoidal (ver Figura 15a), o PPBIO torna menos dispendiosa a instrumentação de um sensor SPR por evitar partes móveis e/ou rotacionais. As paredes laterais inclinadas do PPBIO são especulares para facilitar a reflexão da luz incidente. Esse prisma

possui uma fina camada metálica depositada na base superior, evitando o uso de óleo/gel para acoplamento da superfície metálica.

Figura 15 – Fotografia do PPBIO a) antes e b) depois da deposição de 50 nm de ouro. c) diagrama de blocos da estrutura WIM. d) fotografia do set-up experimental e) diagrama de blocos da estrutura WIM e AIM.

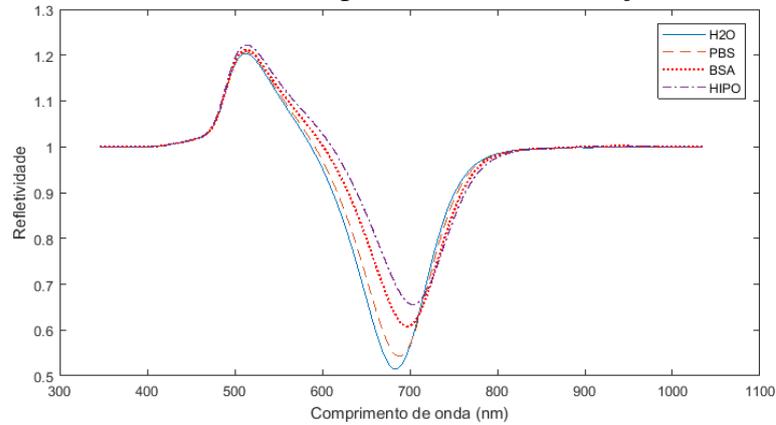


Fonte: Oliveira (2016).

Uma fonte de luz emite feixes sob o obturador que limita o diâmetro, a lente colimadora atribui maior convergência para a luz, o polarizador filtra as ondas eletromagnéticas fazendo com que as ondas de saída sejam p-polarizadas, ao incidir no prisma a fonte de luz excita o fenômeno SPR, a célula de fluxo deposita sobre o prisma o analito, ao variar o material em análise tem-se a variação dos parâmetros das curvas SPR que é captada por um espectômetro via fibra óptica ou por uma câmera. As curvas experimentais obtidas para as substâncias  $H_2O$ , PBS, BSA e Hipo., para o modo WIM encontram-se na Figura 16 e para o modo AIM encontram-se na Figura 17

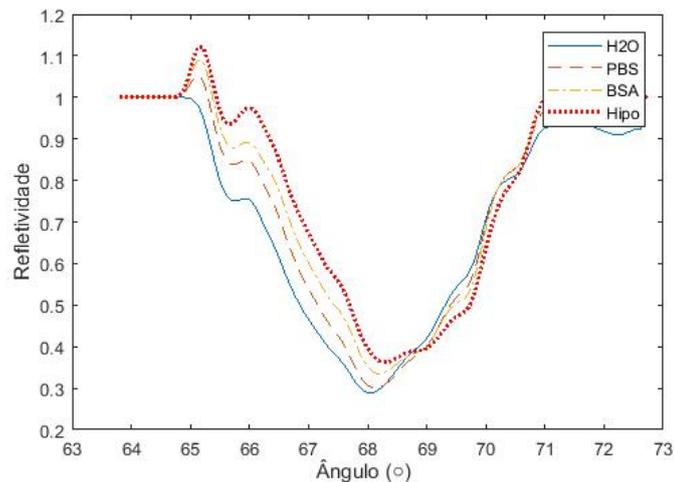
Para definir as curvas experimentais que representam a amostra, desenvolveu-se um algoritmo que mensura o Erro Médio Quadrático (EMQ) de uma curva pivot (seleciona-se uma

Figura 16 – Cuvas SPR experimentais para  $H_2O$ , PBS, BSA e Hipo. obtidas com o sensor desenvolvido com prisma de BK7/Au (50 nm). As curvas possuem formas parabólicas, contudo os ruídos induzem o aparecimento de oscilações sobre estas



Fonte: Oliveira (2016).

Figura 17 – Cuvas SPR experimentais AIM para  $H_2O$ , PBS, BSA e Hipo. obtidas com o sensor desenvolvido com prisma de BK7/Au (50 nm).



Fonte: Oliveira (2016).

curva e a mantém como referência, a cada iteração assume-se uma curva pivot dentro de um intervalo  $[A,B]$  em relação às demais, em seguida busca-se o EMQ máximo (para garantir que a máxima discrepância encontra-se dentro uma faixa) e armazena-se em um vetor "emqmax". O vetor "emqmax" com sua respectiva posição é armazenado em uma matriz "memqmax", busca-se dentro da matriz a curva que gerou o menor EMQ máximo para que seja utilizada como curva representativa do intervalo em questão.

A curva representativa de cada região deve conter um EMQ máximo na ordem de  $10^{-5}$ , caso contrário, deve-se utilizar mais de uma curva para a mesma região ou dividir a região. Normalmente as regiões são escolhidas por substância, todavia, para os casos onde ocorre adsorção, pode ser exigido mais de uma curva para a mesma substância.

### 3.3 Projeto do filtro RNA para o modo WIM

O filtro consiste de uma RNA *Multilayer Perceptron* (MLP) que tem como parâmetros de entrada a distribuição espectral da fonte de luz (nm) em modo WIM ou o ângulo de incidência ( $^{\circ}$ ) em modo AIM, o índice de refração experimental das substâncias e a refletividade das curvas experimentais. A saída do filtro é uma refletividade filtrada nos moldes de uma curva SPR teórica. Foram utilizadas um conjunto de curvas para o treinamento, com base nas curvas representativas do modelo experimental, 1 curva para validação e 1 curva para teste.

Em suma, na entrada da RNA tem-se as curvas experimentais, que são representadas por índice de refração, comprimento de onda e refletividade, estes parâmetros são normalizados de 1 a 10, tendo em vista que tais parâmetros de entrada distanciam-se em valor um dos outros, como exemplo a refletividade varia em torno de 0,2 a 1,2, o comprimento de onda varia entre 200 nm a 900 nm, o índice de refração é descrito por um número complexo, assim assume-se o seu módulo normalizado de 1 a 10. A normalização dos valores de entrada confere igual ponderação para ambos os termos de entrada, conferido maior equidade na computação da RNA.

O primeiro parâmetro de entrada trata-se da refletividade experimental que é dado por um array do tipo  $[L \times C]$  em que L corresponde a quantidade de curvas SPR e C corresponde a quantidade de pontos de cada curva. O segundo parâmetro de entrada corresponde ao comprimento de onda (WIM) ou ângulo (AIM) e é dado por um vetor  $\lambda/\theta[C]$  cujo o comprimento é igual a C. A primeira entrada representa o eixo vertical da curva SPR e a segunda entrada representa o eixo horizontal da curva, a composição ponto a ponto desses dois parâmetros representam a forma da curva SPR. Na terceira entrada tem-se um vetor com comprimento L que representa o índice de refração, este parâmetro é adotado devido a relação entre o formato da curva SPR e o índice de refração, para cada curva tem-se um índice de refração associado.

Na saída do filtro tem-se o array de refletividade filtrada com comprimento  $[L \times C]$ , vale salientar que a filtragem ocorre da forma ponto a ponto. O comprimento de onda da curva experimental deve ser igual ao comprimento de onda da curva teórica e conseqüentemente igual ao da curva filtrada. Assim, para representar a curva filtrada torna-se suficiente que a RNA exprima apenas a refletividade. Portanto define-se que a RNA deve possuir 3 parâmetros de entrada e uma saída.

O projeto da RNA inicia-se com a escolha das curvas experimentais que representam a amostra de dados, após esta etapa é feito a normalização dos dados de entrada. Em seguida, através do modelo de Fresnel, definem-se curvas teóricas equivalentes às curvas experimentais

selecionadas. Cada índice de refração representa uma curva e cada curva é representada por um conjunto de pontos (comprimento de onda x refletividade). Para cada ponto da curva experimental  $[L_{xy}]$  existe um ideal representado pelo mesmo ponto na curva teórica  $[L_{xy}]$ , assim a curva teórica atua como o valor de referência da RNA, com base no erro produzido entre a saída da RNA e valor de referência os pesos são ajustados.

Cada configuração multicamada deve possuir uma RNA, tendo em vista que o prisma/PPBIO muda, assim o nível de ruído entre os tipos de chip não estão correlacionados. Adiante exibem-se os aspectos metodológicos para o projeto da RNA para a multicamada composta por ouro e BK7 em modo WIM.

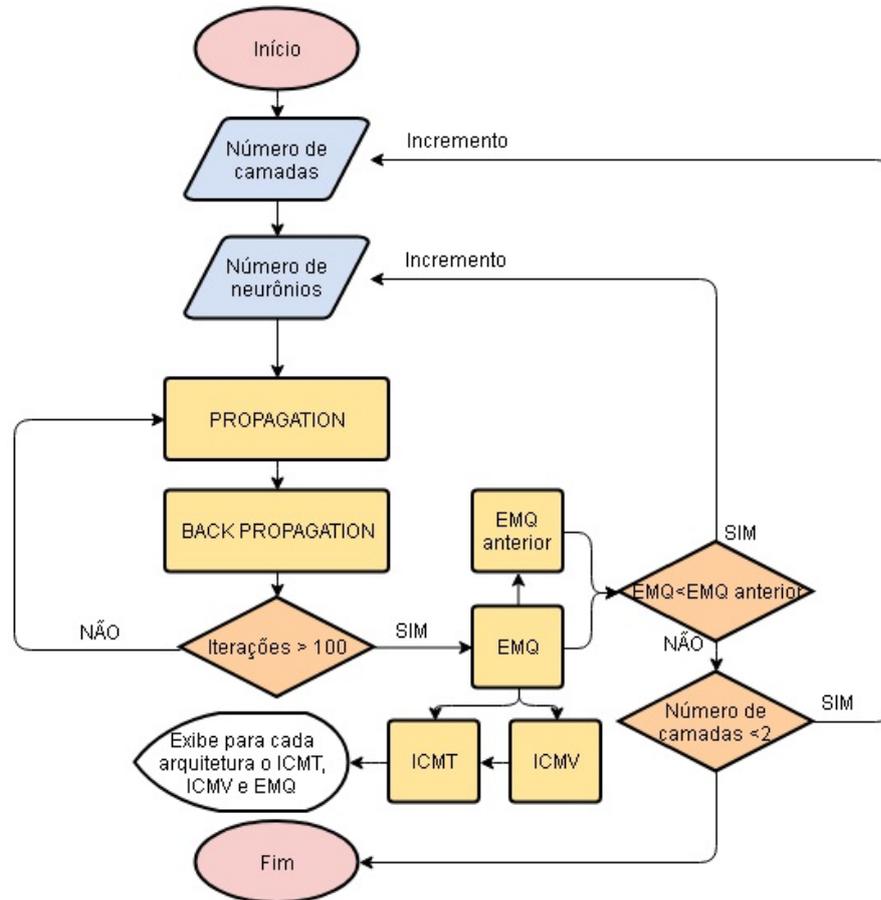
Com base no aspecto de não linearidade das curvas SPRs utiliza-se função de ativação sigmoide, além da motivação por ausência de linearidade, a função sigmoide leva em conta a fase refratária de neurônios reais, a qual delimita as regiões onde um sinal de excitação pode gerar ou não potencial de ação. Como critério de aprendizagem adota-se o algoritmo *backpropagation*, devido a necessidade de utilização de mais de uma camada escondida a RNA desenvolvida classifica-se como MLP.

Para definir de forma coerente a arquitetura da RNA, desenvolveu-se um algoritmo conforme a Figura 18, que a uma taxa de aprendizagem constante, varia o número de neurônios em cada camada escondida e após 100 épocas fornece o índice de correlação do modelo validado (ICMV), o índice de correlação do modelo testado (ICMT), para cada rede criada, até que a variação do erro médio quadrático se mantenha estável ou aumente. A Tabela 2 sumariza as nove melhores RNAs encontradas pelo algoritmo, demonstrando o número de neurônios na primeira ( $L_1$ ) e segunda ( $L_2$ ) camada escondida.

Tabela 2 – Diferentes combinações na quantidades de neurônios das camadas escondidas 1 e 2 e seus respectivos parâmetros estatísticos.

RNA	L1	L2	EMQ	ICMV	ICMT	Épocas
1	8	4	0,0095	0,8916	0,6251	100
2	8	9	0,0092	0,7008	0,4873	100
3	9	11	0,0090	0,8708	0,5659	100
4	9	13	0,0087	0,8136	0,4936	100
5	10	6	0,0086	0,9150	0,7225	100
6	12	7	0,0085	0,8542	0,6067	100
7	12	8	0,0087	0,9056	0,6795	100
<b>8</b>	<b>13</b>	<b>13</b>	<b>0,0070</b>	<b>0,9195</b>	<b>0,7379</b>	<b>100</b>
9	13	14	0,0086	0,7470	0,5130	100

Figura 18 – Algoritmo para seleção da arquitetura da RNA, com base nos parâmetros estatísticos, EMQ, ICMT e ICMV.



Levando em consideração o ICMV, o ICMT e o EMQ, adota-se a RNA 8. A arquitetura desta RNA está representada na Figura 19. A rede possui alta conectividade, em que cada neurônio da camada anterior possui ligação com os neurônios da camada posterior, divergindo das redes convolucionais que analisam campos receptivos locais. Desse modo, consegue-se analisar o comportamento global da curva SPR.

Através da Figura 20 investiga-se a relação entre o coeficiente de aprendizagem ( $\eta$ ) e resposta do regime transitório. Aumentando-se o coeficiente aumenta-se o percentual de *overfit* bem como a velocidade de convergência.

Os dados estão sumarizados na Tabela 3. Observa-se que o ICMV é maior para ( $\eta$ )=0,75, no entanto, o ICMT é reduzido, o que provoca uma melhoria no viés e um aumento da variância, denotando *overfitting* e conseqüentemente a necessidade por reduzir ( $\eta$ ). Escolhe-se ( $\eta$ ) igual a 0,31 por apresentar baixo percentual de *overfitting* e boa classificação estatística.

Após a definição da arquitetura da RNA MLP, inicia-se o treinamento. Tomando-se a estrutura Au/Bk WIM como exemplo, na etapa de seleção das curvas que representam a amostra,

Figura 19 – Arquitetura da rede neural embarcada no sensor SPR inteligente para atuar como filtro de dados SPR no modo WIM.

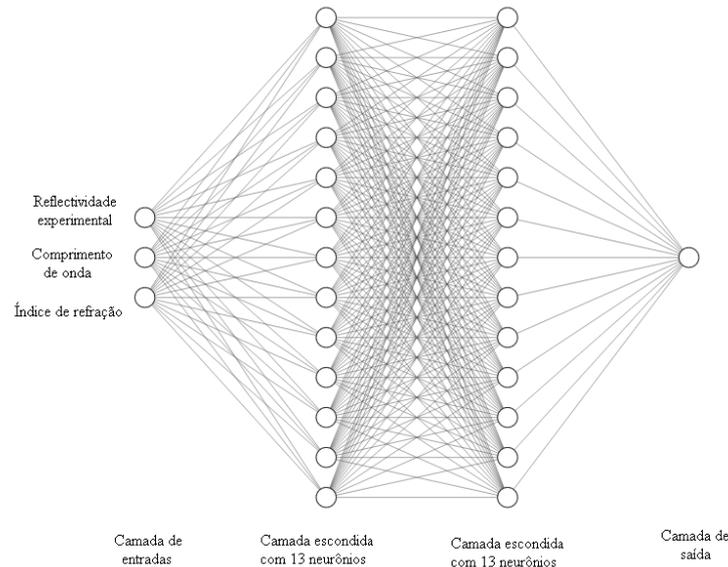


Figura 20 – Influência do coeficiente de aprendizagem sobre o regime transitório (EMQ por Épocas).

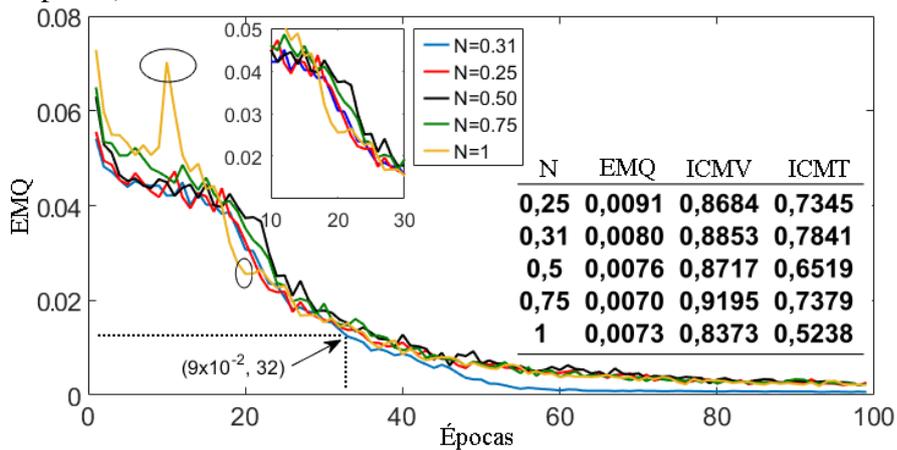


Tabela 3 – Influência do coeficiente de aprendizagem sobre ICMT e EMQ.

$\eta$	EMQ	ICMV	ICMT	Épocas
0,25	0,0091	0,8684	0,7345	100
<b>0,31</b>	<b>0,0080</b>	<b>0,8853</b>	<b>0,7841</b>	<b>100</b>
0,5	0,0076	0,8717	0,6519	100
0,75	0,0070	0,9195	0,7379	100
1	0,0073	0,8373	0,5238	100

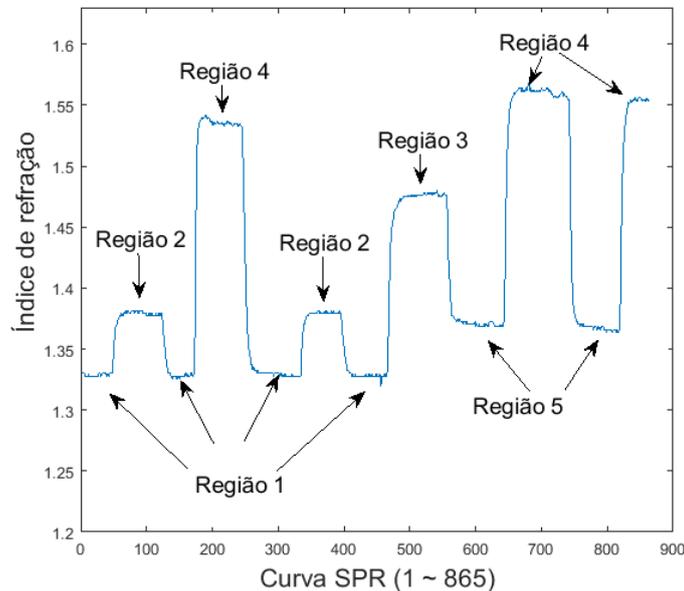
selecionou-se uma curva para cada região, que classificam-se conforme a Tabela 4. A Figura 21, demonstra a divisão das regiões para um total de 865 curvas SPR. O critério utilizado para dividir cada região foi o índice de refração ponderado (módulo do índice de refração mais um percentual de variação em relação a água multiplicado por 100).

Aplicando-se a análise de Fresnel encontram-se curvas teóricas correspondentes

Tabela 4 – Seleção de curvas representativas por regiões da amostra. adota-se a curva SPR com o menor EMQ máximo dentro de uma região, diz-se que a curva selecionada representa a região

	Região 1	Região 2	Região 3	Região 4
Intervalo	[1, 48]	[56, 123]		[179, 245]
	[132, 172]	[341, 396]	[481, 556]	[654, 742]
	[261, 334]	[564, 643]		[832, 865]
	[405, 465]	[752, 819]		
Curva representativa	282	344	545	198
EMQ Máx	$2,09 \times 10^{-6}$	$1,83 \times 10^{-6}$	$2,01 \times 10^{-5}$	$1,59 \times 10^{-5}$

Figura 21 – Divisão do espaço de amostragem em cinco regiões classificadas inicialmente segundo o índice de refração ponderado.

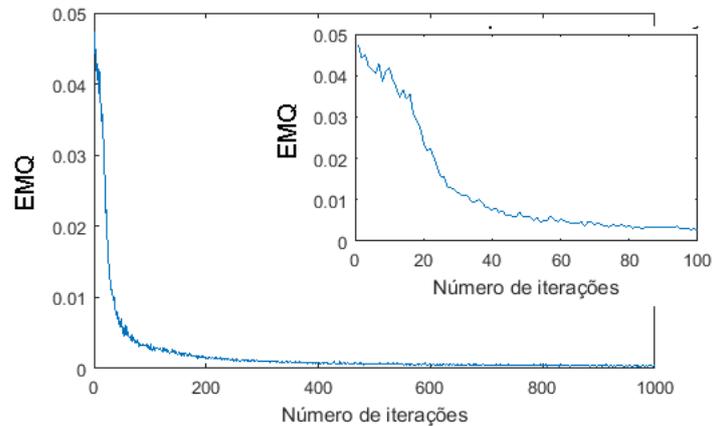


às curvas experimentais que representam o modelo. Como cada curva é representada por um conjunto de pontos, a cada iteração adota-se um ponto aleatório entre as curvas experimentais com o respectivo valor teórico associado, o resíduo é computado por meio da diferença entre o valor da refletividade experimental e refletividade teórica. Com base no resíduo gerado entre a refletividade teórica desejada e refletividade experimental da curva, calcula-se o gradiente local, e os novos pesos e bias necessários para correção do erro instantâneo são atualizados. Após a conclusão do treinamento, tem-se na saída da RNA uma refletividade filtrada ponto a ponto. O tempo de convergência médio para o treinamento de uma RNA é de 14 horas e 27 minutos, sendo diretamente proporcional ao nível de ruído presente em cada configuração multicamada.

Na Figura 22 exibe-se a curva de aprendizagem de ensemble, demonstrando-se a taxa de convergência da RNA durante o treinamento. Observa-se pelo critério do EMQ mínimo,

estabilização na resposta permanente.

Figura 22 – Curva de ensemble para a RNA 8 após 1000 épocas. Destaque para o regime transitório presente nas primeiras 100 épocas. Demonstra-se a estabilização do EMQ no regime permanente



Após o treinamento da RNA é feita a validação por meio da curva SPR 344, que foi utilizada durante o treinamento. Na etapa de validação investiga-se o ICMV, caso o ICMV seja maior que 0,98 a etapa de teste é realizada, caso o ICMV seja menor que 0,98 o treinamento volta a ser executado.

Após validar a aprendizagem da RNA com uma das curvas treinadas, realiza-se o teste da RNA. O teste é dividido em dinâmico e estático. O teste estático é realizado de forma quantitativa, com uma curva não treinada (Curva 360, para o exemplo) é mensurado o ICMT, que deve ser maior que 0,9. Se o ICMT for menor que 0,9 a RNA volta a ser treinada. Se o ICMT for maior que 0,9 realiza-se a etapa de teste dinâmico.

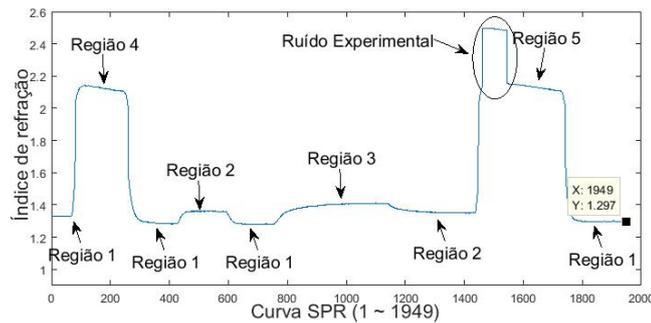
Com os pesos e bias treinados, o filtro de dados baseado em RNA é embarcado no software do sensor, criando assim, um sensor SPR com resposta inteligente. Para o teste dinâmico do filtro, segue-se o mesmo protocolo experimental e verificam-se as curvas SPR filtradas em tempo-real. Com base nos sensorgramas de  $\lambda_R/\theta_R$ , largura, assimetria, energia e fase realizam-se os testes dinâmicos através de comparativos entre os valores teóricos, experimentais e os valores obtidos com o filtro.

### 3.4 Projeto do filtro RNA para o modo AIM

O filtro AIM consiste de uma RNA *Multilayer Perceptron* (MLP) que tem como parâmetros de entrada o ângulo da fonte de luz, o índice de refração das substâncias e a

refletividade das curvas experimentais. A saída do filtro é uma curva SPR filtrada nos moldes de uma curva SPR teórica. Para a seleção das curvas que representam a amostra seguiu-se a metodologia descrita na seção anterior. Tomando-se como exemplo a configuração AU/BK7 AIM, divide-se o espaço de amostragem de acordo com a substância (índice de refração), conforme a Figura 23.

Figura 23 – Divisão do espaço de amostragem. Regiões classificadas de acordo com o índice de refração ponderado



As curvas utilizadas para o treinamento estão contidas na Tabela 5. Na etapa de validação utilizou-se a curva 1014 e na etapa de teste estático utilizou-se a curva SPR 1600. Para o filtro AIM segue-se a mesma metodologia WIM, todavia as entradas são diferentes, para uma RNA de modo AIM tem-se o ângulo da fonte de luz em substituição ao comprimento de onda. A quantidade de neurônios em cada camada escondida foi escolhida conforme a Tabela 6.

Tabela 5 – Seleção de curvas representativas por regiões da amostra. Configuração AU/BK7 em modo AIM

	Região 1	Região 2	Região 3	Região 4
Intervalo	[1, 63]			
	[292, 426]	[451, 591]		[95, 251]
	[623, 752]	[1206, 1438]	[819, 1137]	[1551, 1730]
	[1774, 1949]			
Curva representativa	652	503	1014	1657
EMQ Máx	$5.77 \times 10^{-5}$	$3.76 \times 10^{-5}$	$3.56 \times 10^{-5}$	$5 \times 10^{-5}$

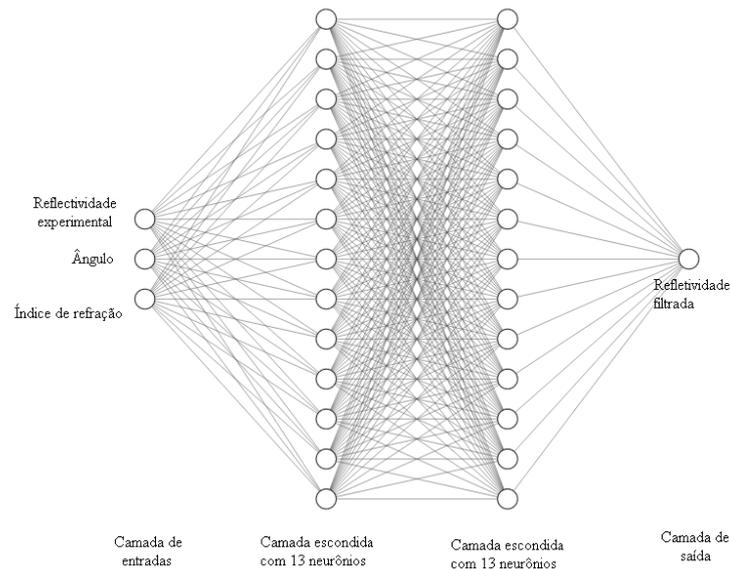
Utilizando os critérios de ICMT e ICMV e velocidade de convergência adota-se a RNA 9, pois esta apresentou o maior ICMT em uma velocidade aceitável. A arquitetura da RNA pode ser melhor visualizada na Figura 24. A taxa de aprendizagem foi de 0,31, igualmente ao filtro WIM. A curva de Ensemble para esta RNA pode ser vista na Figura 25

No capítulo 4 exibem-se os resultados obtidos com a utilização desta RNA, tais como os testes estáticos e dinâmicos. O teste estático objetiva avaliar os parâmetros estatísticos, em

Tabela 6 – Diferentes combinações na quantidades de neurônios das camadas escondidas 1 e 2 e seus respectivos parâmetros estatísticos para o modo AIM.

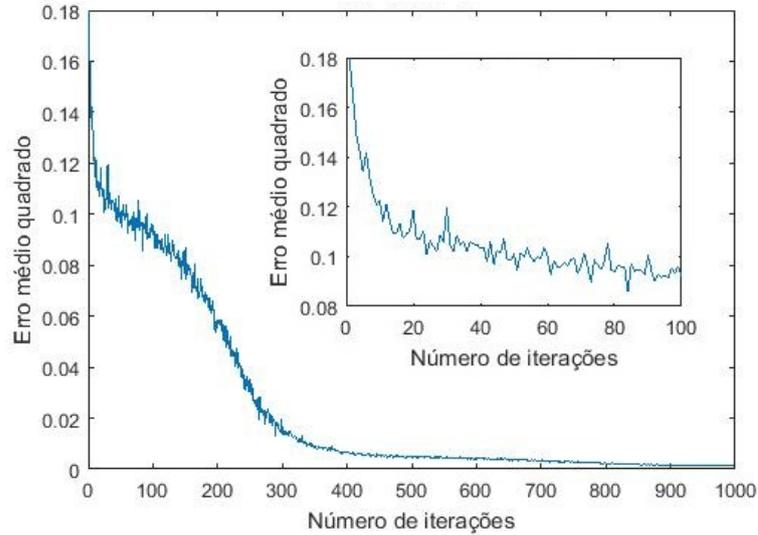
RNA	L1	L2	EMQ	ICMV	ICMT	Épocas
1	8	10	0,0189	0,9768	0,3499	100
2	8	12	0,0189	0,9777	0,3462	100
3	9	13	0,0197	0,9658	0,4815	100
4	11	9	0,0159	0,9612	0,3818	100
5	11	13	0,0145	0,9570	0,4687	100
6	12	8	0,0136	0,9794	0,4400	100
7	12	10	0,0123	0,9472	0,4962	100
8	13	8	0,0119	0,9516	0,6152	100
<b>9</b>	<b>13</b>	<b>13</b>	<b>0,0101</b>	<b>0,9703</b>	<b>0,6786</b>	<b>100</b>

Figura 24 – Arquitetura da rede neural embarcada no sensor SPR inteligente para atuar como filtro de dados SPR no modo AIM.



suma o EMQ deve está na ordem de  $10^{-5}$ , o ICMV  $> 0,98$  e o ICMT  $> 0,90$ . O teste dinâmico é dado por meio da análise dos sensorgramas. Os sensorgramas gerados com o filtro e sem o filtro são comparados afim de verificar se houveram melhorias, havendo melhorias concluem-se os testes dinâmico. O filtro RNA SPR (NNSF - RNA SPR Filter) deve atuar removendo ruídos generalistas que afetam a maior parte da amostra, remodelando a forma da curva SPR e melhorando os parâmetros de  $\lambda_R/\theta_R$ , largura, assimetria, energia e fase. O filtro não deve intervir na sinética das reações, atuando assim, de forma inteligente.

Figura 25 – Curva de ensemble para a RNA 9 após 1000 épocas, destaque para o regime transi-tório nas 100 primeiras épocas.



### 3.5 Coeficiente de Distorção e Comitê Dinâmico

Para a filtragem de curvas com alta distorção é exigido um alto custo computacional. Em casos com alta distorção, torna-se necessário mais de uma RNA MLP para a mesma multicamada, em que a resposta de cada RNA é combinada por meio de um comitê dinâmico. A utilização de comitê dinâmico visa generalizar a aplicação do método NNSF. Nesta seção serão descritos os procedimentos para avaliação da distorção entre as curvas SPR e quando ocorre a necessidade por utilizar o comitê dinâmico.

A aplicação da RNA MLP está fundamentada em torno do erro pontual produzido entre a curva SPR experimental e a respectiva curva SPR teórica conforme a equação:  $\varepsilon(\lambda) = |\Gamma(\lambda_T) - \Gamma(\lambda_E)|$ , todavia, pode-se quantificar o erro envolvido, através da superfície do erro, demonstrada na Equação 3.1. Em que:

$$\zeta = \int_a^b (\Gamma(\lambda_T) - \Gamma(\lambda_E)) d\lambda / e^{n_s} \quad (3.1)$$

$\Gamma(\lambda_T) \rightarrow$  Refletividade em função do comprimento de onda ou ângulo teórico.

$\Gamma(\lambda_E) \rightarrow$  Refletividade em função do comprimento de onda ou ângulo experimental.

$\varepsilon(\lambda) \rightarrow$  Erro pontual em um determinado comprimento de onda ou ângulo.

$\zeta \rightarrow$  Superfície de erro definida pela área entre uma curva experimental e uma curva teórica.

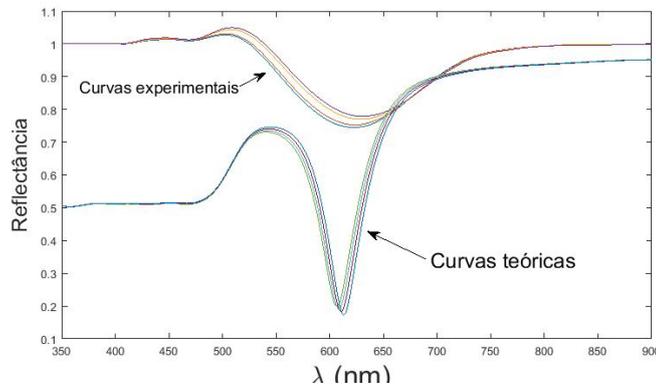
$n_s \rightarrow$  Índice de refração da substância.

Tomando como base a superfície de erro de uma substância  $X$ , em relação a superfície de erro de uma substância  $Y$  pode-se verificar o quão a curva SPR da substância  $X$  se distorceu em relação a substância  $Y$ . O índice de refração exerce uma variação natural sobre a distorção da curva experimental, sendo assim este deve ser considerado no cálculo da distorção. Através de experimentos realizados, definiu-se a Equação 3.2, que define o método de cálculo do coeficiente de distorção (CD).

$$CD = \zeta_X / \zeta_Y \quad (3.2)$$

Para um experimento com 4 tipos de substâncias pode-se determinar uma matriz de coeficientes de distorção  $4 \times 4$  em que cada linha e coluna representam uma substância. As curvas SPR exibidas na Figura 26 representam as substâncias  $H_2O$ , PBS, BSA e Hipoclorito. Para cada substância tem-se uma curva teórica e uma curva experimental. A Matriz de Coeficientes de Distorção (MCD) para estas curvas é exibida em 3.3.

Figura 26 – Curvas experimentais e teóricas para para sistema multicamada composto por Ouro e Pc.



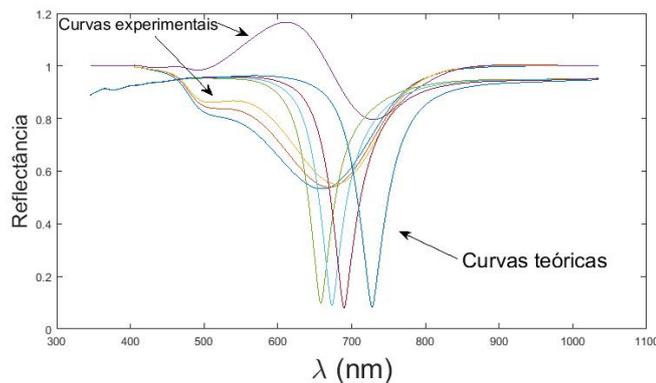
$$MCD = \begin{vmatrix} & H_2O & PBS & BSA & HIPO \\ H_2O & 1,0000 & 0,9983 & 0,9820 & 0,9814 \\ PBS & 0,9983 & 1,0000 & 0,9837 & 0,9831 \\ BSA & 0,9820 & 0,9837 & 1,0000 & 0,9993 \\ HIPO & 0,9814 & 0,9831 & 0,9993 & 1,0000 \end{vmatrix} \quad (3.3)$$

Cada coeficiente da matriz exibe o nível de distorção entre duas curvas. Como exemplo, o nível de distorção entre PBS e  $H_2O$  é de 0,9983, isto significa que a curva do PBS

possui boa correlação com a curva da água, e a maior parte do ruído que ocorre na curva do PBS também está presente na curva da água. Qualitativamente pode-se observar que a curva do PBS assemelha-se a curva da água.

Para a configuração envolvendo prata e BK7, observa-se na Figura 27 uma maior discrepância do Etanol 25%, em relação as outras curvas, demonstrando-se a existência de um ruído particular nesta curva.

Figura 27 – Curvas experimentais e teóricas para para sistema multicamada composto por prata e Pc.



A matriz de coeficientes de distorção exibida em 4.7 mostra de forma quantitativa que a curva referente ao Hipoclorito se distorce em relação às demais. Observa-se que a curva referente a água é a que melhor se relaciona com o hipoclorito apresentando um MCD de 0,7262. A curva do PBS em relação ao hipoclorito apresenta maior nível de distorção com um MCD de 0,6964. Conclui-se que a RNA referente ao hipoclorito deve ser treinada de forma independente pois a sua forma se distorce em relação às demais.

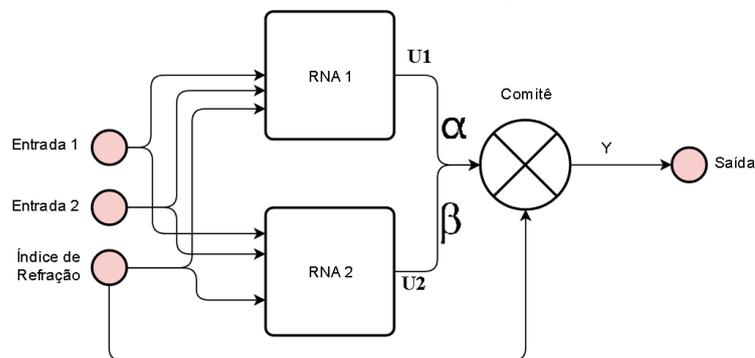
$$MCD = \begin{vmatrix} & \text{H2O} & \text{PBS} & \text{BSA} & \text{HIPO} \\ \text{H2O} & 1,0000 & 0,9590 & 0,9617 & \mathbf{0,7262} \\ \text{PBS} & 0,9590 & 1,0000 & 0,9972 & \mathbf{0,6964} \\ \text{BSA} & 0,9617 & 0,9972 & 1,0000 & \mathbf{0,6984} \\ \text{HIPO} & \mathbf{0,7262} & \mathbf{0,6964} & \mathbf{0,6984} & 1,0000 \end{vmatrix} \quad (3.4)$$

Com base em aspectos estatísticos como o tempo de treinamento, índice de correlação e erro médio quadrático, verificou-se que para coeficientes de distorção próximo a 1, a RNA apresenta resposta satisfatória. Todavia para coeficientes de distorção menores que 0,8 a RNA apresenta problemas. Torna-se necessário a utilização de comitê dinâmico quando todas as linhas

da MCD apresentam ao menos um coeficientes menor que 0,8, indicando que ao menos uma curva não estabelece correlação de ruídos com às demais.

Para o modelo em questão, realiza-se a associação das curvas com maior correlação de ruído e define-se um especialista para este conjunto de curvas, o especialista trata-se de uma RNA que foi treinada seguindo a metodologia citada, contudo apenas para um subconjunto da amostra global. Para uma amostra representadas por 4 curvas tem-se a disposição do comitê conforme Figura 28, com dois especialistas.

Figura 28 – Comitê dinâmico com dois especialistas, a saída do especialista RNA 1 é dada por  $U1$  e a saída do especialista RNA 2 é dada por  $U2$ , de acordo com o índice de refração de cada substância o comitê julga a ponderação de cada especialista



Após o treinamento de dois especialistas o comitê julga a parcela de influência de cada especialista sobre a resposta final de acordo com a equação 3.5. Em que:

$$\begin{aligned}
 Y &= (\alpha)U1 + (\beta)U2 \\
 \alpha &= (N3_{max} - N3)/(N3_{max} - N3_{min}) \\
 \beta &= 1 - \alpha
 \end{aligned}
 \tag{3.5}$$

$U1 \rightarrow$  Saída da RNA1.

$U2 \rightarrow$  Saída da RNA2.

$\alpha \rightarrow$  Valor de ponderação da saída da RNA 1, sintonizado pelo comitê.

$\beta \rightarrow$  Valor de ponderação da saída da RNA 2, sintonizado pelo comitê.

$N3_{(max)}$   $\rightarrow$  Maior índice de refração dentre a amostra.

$N3_{(min)}$   $\rightarrow$  menor índice de refração dentre a amostra.

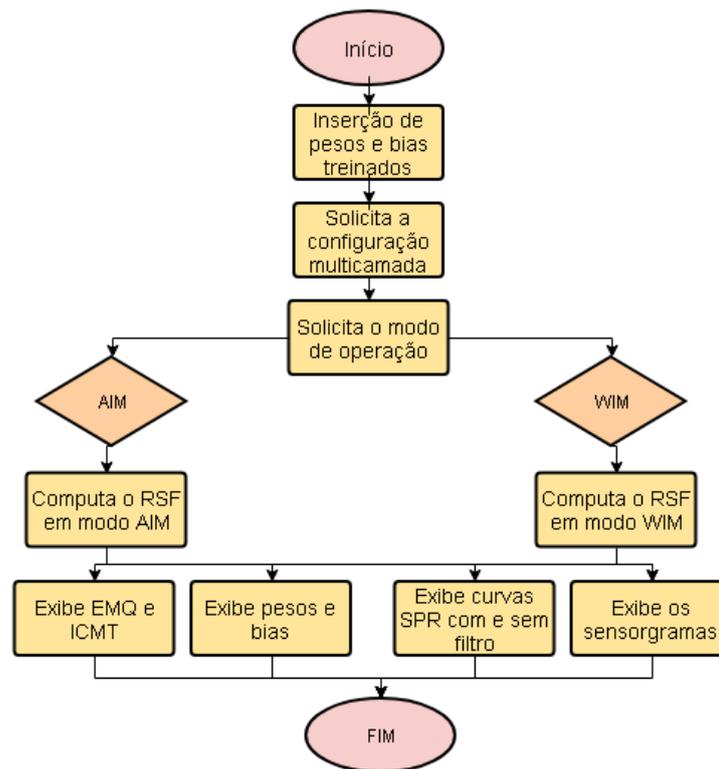
$N3 \rightarrow$  índice de refração corrente.

### 3.6 Interface Gráfica

Conforme mencionado na seção 3, para cada configuração multicamada decorre a necessidade por um NNSF, após a validação e teste dos NNSFs introduz-se os mesmos em uma interface gráfica. O objetivo da interface gráfica é condensar todos os NNSFs, de modo que o usuário tenha uma ferramenta de filtragem geral e intuitiva.

Como critérios de projeto, a interface gráfica deve possibilitar que o usuário insira um conjunto de curvas SPR e selecione qual a configuração multicamada deve ser filtrada. Como saída, a interface deve exibir as curvas SPR sem filtro e com filtro, bem como as características gerais da RNA aplicada para filtragem. O fluxograma contido na Figura 29 exibe o funcionamento geral da interface.

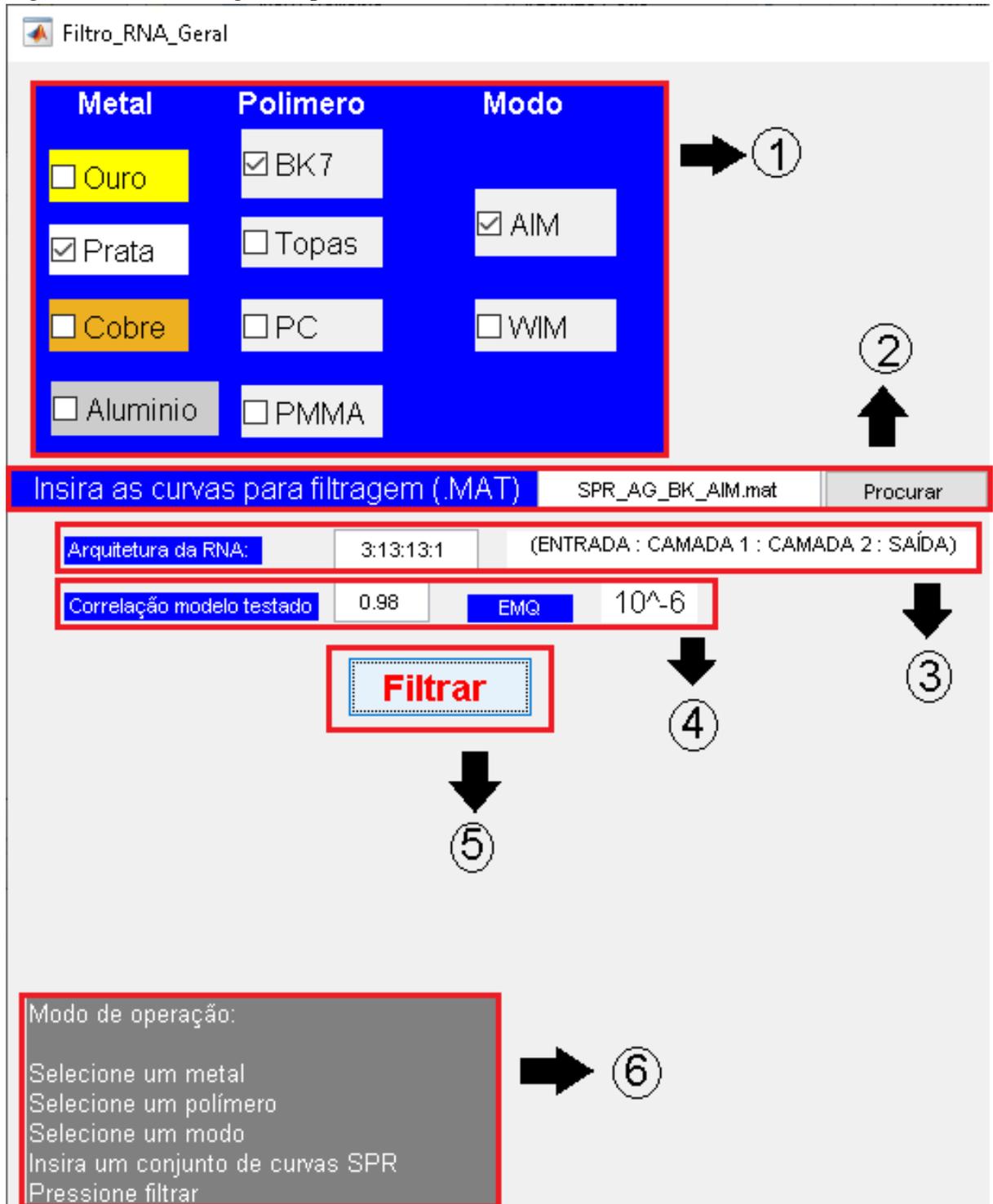
Figura 29 – Curvas experimentais e teóricas para para sistema multicamada composto por prata e Pc.



A interface gráfica desenvolvida é composta por 10 *check box*, em que o usuário seleciona a configuração da multicamada através do tipo de metal, tipo de polímero e modo de operação. Após selecionar a configuração da multicamada o usuário deve buscar um arquivo .mat que contenha curvas SPR para filtragem, esses arquivos devem ser do tipo matriz onde cada linha representa uma curva e cada coluna representa a refletividade da curva. Com a inserção

dos parâmetros para filtragem basta clicar no *push button*, "Filtrar", em seguida os parâmetros estatísticos, pesos, bias e arquitetura da RNA são exibidos. Para melhor exibição da interface gráfica dividiu-se a mesma em parte A (Figura 30) e parte B (Figura 31).

Figura 30 – Interface gráfica parte A



Na parte 1 ocorre a seleção da configuração multicamada, o usuário deve indicar o

tipo de polímero e o tipo de metal, selecionando a *checkbox* correspondente, nesta etapa define-se qual NNSF será utilizado. No campo "MODO" o usuário indica se a configuração multicamada está em modo AIM ou WIM.

Na parte 2 o usuário deve clicar em "procurar" e selecionar um conjunto de curvas SPR para filtragem, a interface gráfica armazena esta informação e exibe qual foi o arquivo selecionado, permitindo que o usuário se certifique de ter selecionado o arquivo correto.

Após fornecer os dados de entrada nas partes 1 e 2 o usuário deve clicar em filtrar, para que o filtro seja aplicado. As características do filtro serão exibidas na parte 3 e 4. Na parte 3 exibe-se a arquitetura da RNA, para o caso da multicamada Ag/BK7 em modo AIM a RNA MLP possui arquitetura 3:13:13:1, o que significa que RNA possui três neurônios na camada de entrada, 13 neurônios na primeira camada escondida, 13 neurônios na segunda camada escondida e 1 neurônio na saída. Na parte 4 exibe-se o EMQ mensurado na etapa de treinamento bem como o ICMT.

Na parte 6 exibe-se um breve manual para guiar o usuário na utilização da interface gráfica. O arquivo inserido no campo "Procurar" deve respeitar as recomendações citadas no parágrafo três da subseção 3.6. O usuário deve verificar a disposição do  $\lambda/\Theta$ , esta variável pode ser alterada no código fonte da interface. Para cada configuração multicamada  $\lambda/\Theta$  possuem valores padronizados, como exemplo para Ag/BK7 em modo AIM o  $\Theta$  varia de  $64.6120^\circ$  a  $73.5580^\circ$  com incremento de  $0,007^\circ$ , o usuário deve alterar este parâmetro caso os dados sejam divergentes.

Na parte 7 exibem-se os bias utilizados na RNA, estão organizados da forma  $1 \times 27$ , uma vez que são aplicados aos 13 neurônios de cada camada escondida, e a oneurônio da saída, totalizando 27.

Na parte 8 exibem-se os pesos sintonizados na etapa de treinamento. Os pesos estão dispostos da forma  $27 \times 26$ . A disposição dos pesos pode ser compreendida pela composição de 3 matrizes, em que a primeira representa os pesos contidos entre as 3 entradas e os 13 neurônios da camada escondida, a segunda matriz  $13 \times 13$  representa os pesos entre os 13 neurônios da primeira camada escondida e os 13 da segunda camada escondida, e a terceira matriz  $13 \times 1$  representa os pesos entre os 13 neurônios da segunda camada e o neurônio da camada de saída. Associando – se as 3 matrizes tem – se a composição geral  $27 \times 26$ .

A Tabela 7 resume a composição da interface gráfica.

Figura 31 – Interface gráfica parte B

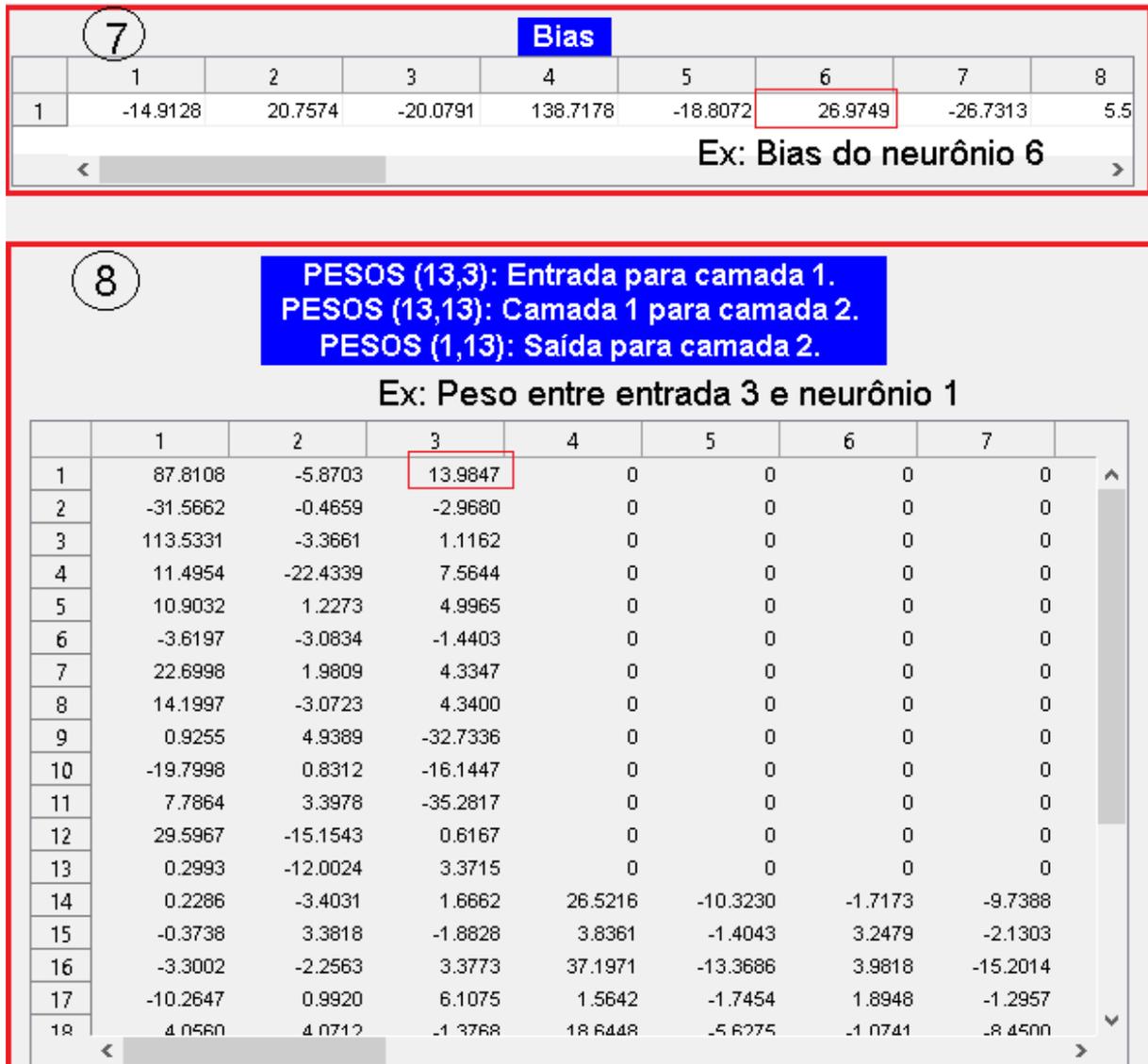


Tabela 7 – Legenda para interface gráfica

Item	Descrição
1	Caixa de seleção para o metal, polímero e modo
2	Botão para procurar um arquivo .mat que contenha curvas SPR para filtragem
3	Botão para realizar a filtragem após seleção dos parâmetros
4	Painel de exibição da arquitetura da RNA e parâmetros estatísticos
5	Painel para exibição dos parâmetros estatísticos
6	Manual simplificado para utilização do filtro
7	Painel para exibição de Pesos da RNA
8	Painel para exibição de Bias da RNA

## 4 RESULTADOS

Na presente seção exibem-se MCDs, testes estáticos e dinâmicos para cada configuração multicamada. A avaliação da MCD antecede a etapa de treinamento e é realizada para verificar a necessidade de uso de comitê dinâmico conforme seção 3.5. Os teste estáticos são realizados através da avaliação do EMQ, ICMT e ICMV que devem apresentar valores contidos na faixa indicada na seção 3.3. Os teste dinâmicos são realizados por meio dos sensorgramas de  $\lambda_R/\theta_R$ , largura, assimetria, energia e fase. Por meio das etapas supracitadas demonstra-se os resultados obtidos com a aplicação de cada filtro. Todos os sensorgramas foram obtidos com o algoritmo Minimum Hunt (Nenninger *et al.*, 2002).

As configurações multicamadas analisadas foram Ouro/BK7, Prata/BK7, Cobre/BK7, Alumínio/BK7, sob os modos AIM e WIM, constituindo-se 8 NNSFs.

### 4.1 NNSF para Ouro e BK7 Modo WIM

Tratando-se da multicamada constituída por ouro e BK7 em modo WIM, seguiu-se o protocolo experimental:  $H_2O \rightarrow PBS \rightarrow H_2O \rightarrow$  Hipoclorito  $\rightarrow H_2O \rightarrow PBS \rightarrow H_2O \rightarrow BSA \rightarrow H_2O \rightarrow$  Hipoclorito  $\rightarrow H_2O$ . Obteve-se um conjunto com 865 curvas.

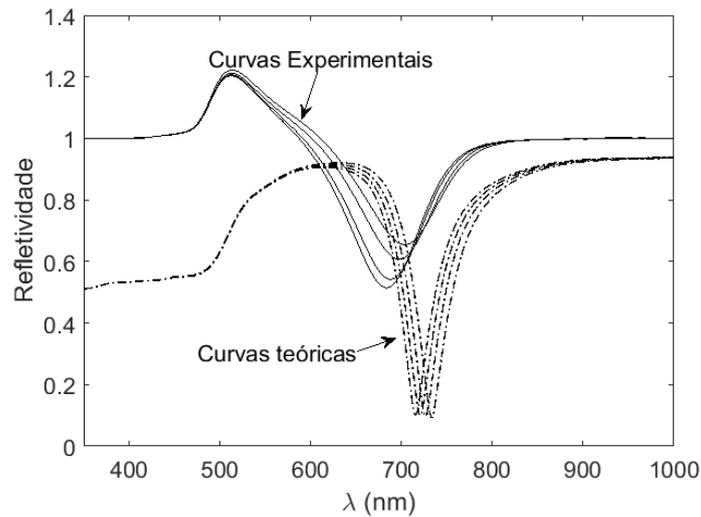
Após a realização do procedimento experimental buscou-se as curvas representativas da amostra de dados. Conforme metodologia descrita na seção 3.3 foram obtidas 4 curvas experimentais que representam a amostra.

Com base em cada curva experimental gerou-se uma curva teórica equivalente, para ser utilizada como professor da RNA. As curvas experimentais e teóricas utilizadas para o treinamento da RNA estão contidas na Figura 32.

#### 4.1.1 Teste estático

Com base nas curvas para treinamento da RNA calcula-se a matriz de coeficientes de distorção, exibida em (4.1), ambas as linhas e colunas da matriz demonstram coeficientes maiores que 0,8, com base neste resultado treina-se a RNA MLP simples [3:13:13:1]. Após o

Figura 32 – Curvas experimentais e teóricas utilizadas para o treinamento da RNA para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo WIM.



pré treinamento da RNA a validação e o teste estático são realizados.

$$MCD = \begin{vmatrix} & \mathbf{H_2O} & \mathbf{PBS} & \mathbf{BSA} & \mathbf{Hipo.} \\ \mathbf{H_2O} & 1,0000 & 0,9982 & 0,9885 & 0,9937 \\ \mathbf{PBS} & 0,9982 & 1,0000 & 0,9867 & 0,9920 \\ \mathbf{BSA} & 0,9885 & 0,9867 & 1,0000 & 0,9947 \\ \mathbf{Hipo.} & 0,9937 & 0,9920 & 0,9947 & 1,0000 \end{vmatrix} \quad (4.1)$$

Para a validação do treinamento utiliza-se a curva SPR experimental 344, obtendo-se um ICMV de 0,99 e um EMQ na ordem de  $10^{-6}$ , cumprindo-se as exigências estabelecidas na seção 3.3. Para o teste estático utilizou-se a curva SPR 360, resultando em um ICMT de 0,94.

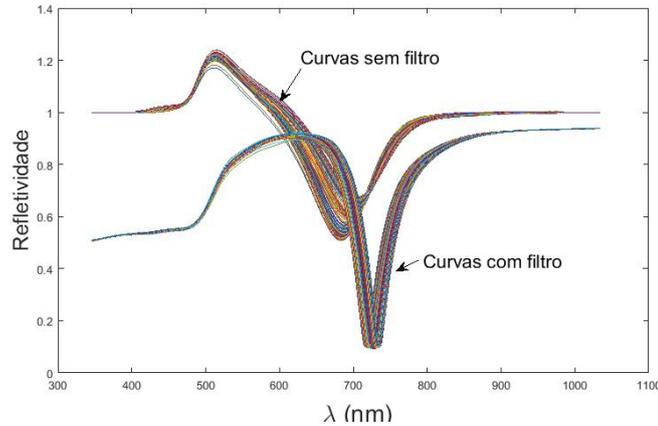
Após as etapas de validação e teste estático realiza-se o teste dinâmico, aplicando-se o NNSF às curvas 865 curvas experimentais.

#### 4.1.2 Teste dinâmico

Na Figura 33 demonstra-se a aplicação do filtro para o ciclo experimental que gerou 865 curvas filtradas. O filtro teve seu comportamento atestado, removendo os ruídos intrínsecos ao sensor e não sendo afetado por cinéticas químicas oriundas das transições entre substâncias com diferentes índices de refração.

Na comparação entre as curvas teóricas e experimentais, nota-se que a curva experimental apresenta um valor de contraste/profundidade menor do que a curva teórica. Isso deve,

Figura 33 – Curvas SPR experimentais obtidas com a execução do protocolo experimental. Sem o filtro as curvas apresentam mudanças de forma devido aos ruídos presentes no sensor. Após a aplicação do filtro, as curvas apresentam formas semelhantes aos resultados teóricos.



majoritariamente, ao fato de a camada metálica ter espessura menor do que a ideal. A posição de ressonância difere em aproximadamente 40 nm, devido a pequenas diferença entre os valores para a propriedade óptica do metal usada na simulação e as obtidas após a deposição do metal. Além disso, a curva experimental apresenta uma proeminência em torno de 520 nm devido a rugosidade do prisma, levando a excitação dos plasmons radiativos (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

O desempenho do sensor inteligente embarcado com o filtro RNA proposto foi realizado. Para tanto, os sensorgramas da posição de ressonância  $\lambda_R$  para as curvas SPR sem e com a aplicação, indicam que o filtro apresentou valores de  $\Delta\lambda_R$  semelhantes, apresentando assim sensibilidade  $S$  equiparável ao sensor sem o filtro, conforme a Figura 34 e Tabela 8 .

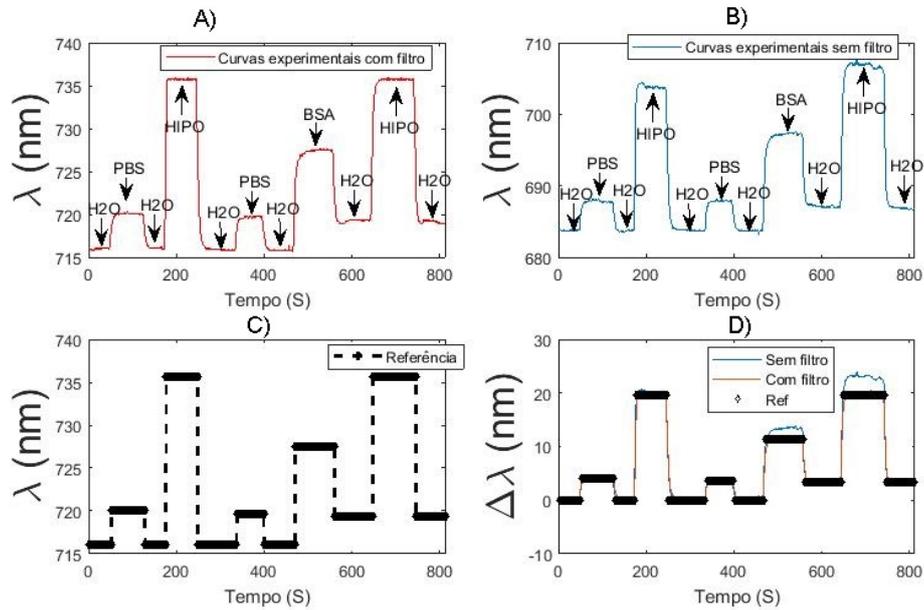
Tabela 8 – Comparativo entre o  $\lambda_R$  teórico ( $\lambda_{RT}$ ),  $\lambda_R$  experimental sem filtro ( $\lambda_{Rraw}$ ) e  $\lambda_R$  experimental com filtro ( $\lambda_{R-NNSF}$ ), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo WIM

Substância	$\lambda_{RT}$ (nm)	$\lambda_{Rraw}$ (nm)	$\lambda_{R-NNSF}$ (nm)
$H_2O$	716.1	683.8	715.8
PBS	720.1	687.9	720.1
BSA	727.5	697.1	727.5
HIPO	735.8	703.6	736

Vale destacar que após a aplicação do filtro, a curva SPR tem sua forma ajustada, o que melhora substancialmente o sensoriamento através das característica contraste/profundidade, largura, assimetria, energia e fase das curvas.

Para o sensorgrama de largura demonstrado na Figura 35 observa-se que as curvas filtradas apresentam menor largura em relação as curvas sem filtro. Para as regiões do hipoclorito

Figura 34 – Sensorgrama experimental para os valores de  $\lambda_R$  gerados em azul. Em vermelho a aplicação do filtro RNA.



contidas entre 178 à 246 segundos e 657 à 740 segundos as curvas com filtro demonstram maior linearidade cinética, uma vez que o nível de sensoriamento para tal região se mantém estável. A variação de largura foi menor para as curvas com filtro, uma vez que as curvas teóricas adotadas durante o treinamento apresentam esta característica, os aspectos quantitativos relacionados a características de largura são exibidos na Tabela 9.

Figura 35 – Sensorgramas de largura, para o sistema multicamada composto por Ouro e BK7 em modo WIM.

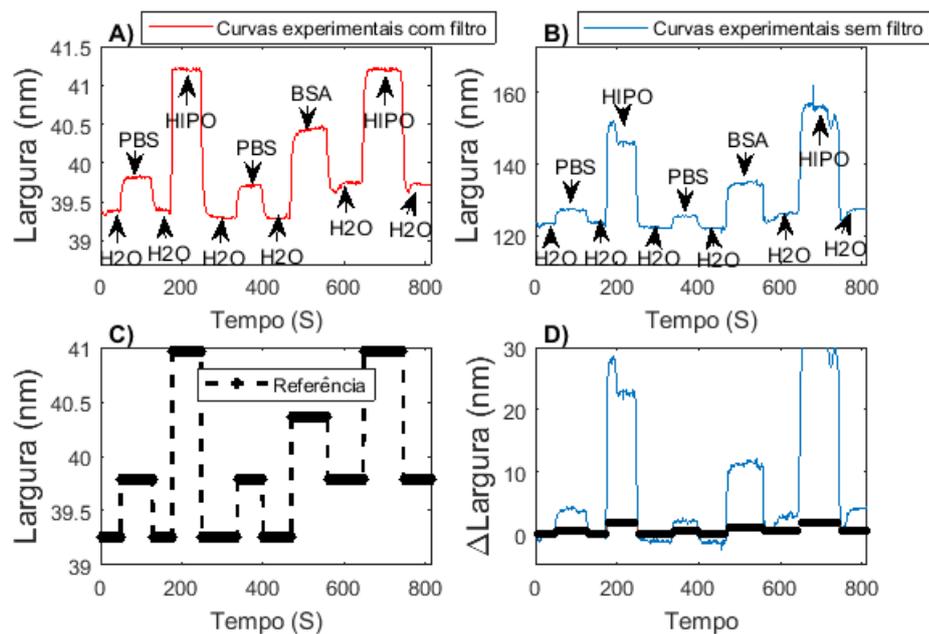


Tabela 9 – Comparativo entre largura teórica (LT), Largura experimental sem filtro ( $L_{raw}$ ) e largura experimental com filtro (L-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo WIM

Substância	LT (nm)	$L_{raw}$ (nm)	L-NNSF (nm)
$H_2O$	39.26	122.8	39.32
PBS	39.79	125.3	39.8
BSA	40.37	134.6	40.4
HIPO	40.97	145.4	41.19

A característica de assimetria para a multicamada de Ouro e BK7 em modo WIM, pode ser observada na Figura 36 e na Tabela 15. As curvas experimentais sem filtro demonstram alto nível de ruído no sensorgrama de assimetria, evidenciando-se a necessidade por métodos de filtragem. Através da RNA MLP foi possível contornar a forma ruidosa do sensorgrama experimental sem filtro.

Figura 36 – Sensorgramas de assimetria para o sistema multicamada composto por Ouro e BK7 em modo WIM.

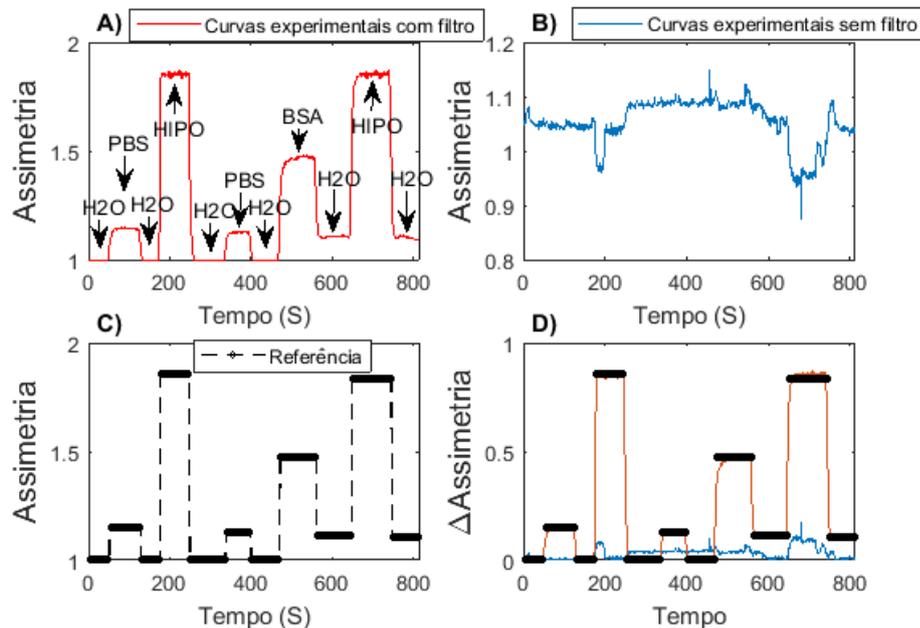


Tabela 10 – Comparativo entre assimetria teórica (AT), assimetria experimental sem filtro ( $A_{raw}$ ) e assimetria experimental com filtro (A-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo WIM

Substância	AT (nm)	$A_{raw}$ (nm)	A-NNSF (nm)
$H_2O$	1	1,051	39.32
PBS	1,15	1,039	39.8
BSA	1,471	1,082	40.4
HIPO	1,856	145.4	41.19

O sensorgrama de energia contido na figura 37, demonstra a atuação do filtro sobre a área gerada por cada curva, constituindo mais uma forma de sensoriamento. A tabela 11 demonstra os níveis de energia para cada substância. A energia produzida com filtro possui menor amplitude se comparada a energia produzida sem filtro, demonstrando que a área abaixo de uma curva filtrada é menor que a área de uma curva sem filtro.

Figura 37 – Sensorgrama de energia, para o sistema multicamada composto por Ouro e BK7 em modo WIM.

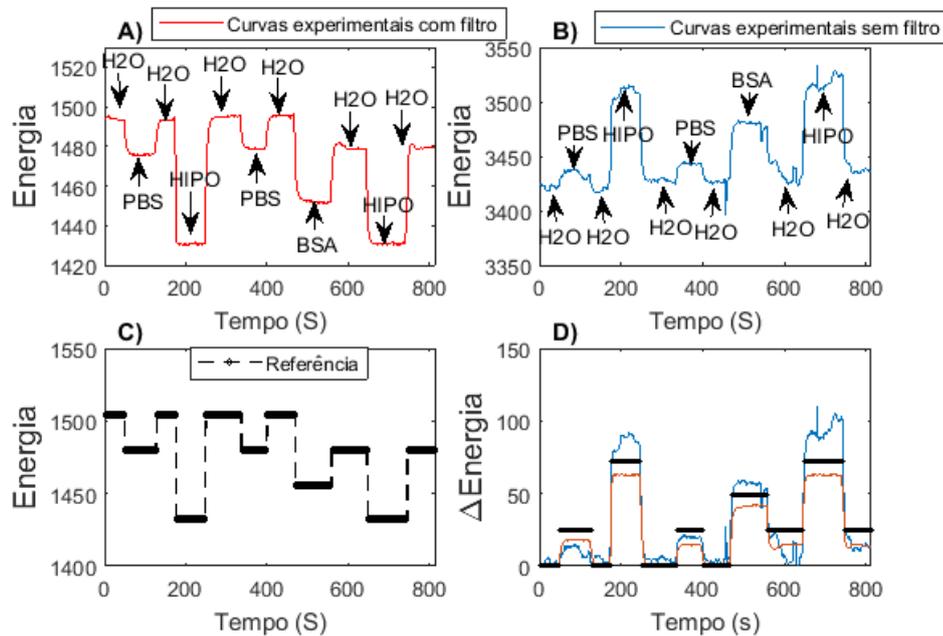


Tabela 11 – Comparativo entre energia teórica (ET), energia experimental sem filtro ( $E_{raw}$ ) e energia experimental com filtro (E-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo WIM

Substância	ET	$E_{raw}$	E-NNSF
$H_2O$	1505	3427	1495
PBS	1480	3443	1479
BSA	1456	3480	1452
HIPO	1432	3512	1431

O sensorgrama de fase é plotado aplicando-se a *fast fourier transform* sobre cada curva para um determinado intervalo. A Figura 38 exibe a fase para configuração em questão em que a Tabela 12 sumariza os valores permanentes de fase para cada substância. Ruídos pontuais presentes nas curvas experimentais sem filtro estão ausentes nas curvas experimentais com filtro.

Figura 38 – Sensorgrama de fase, para o sistema multicamada composto por Ouro e BK7 em modo WIM.

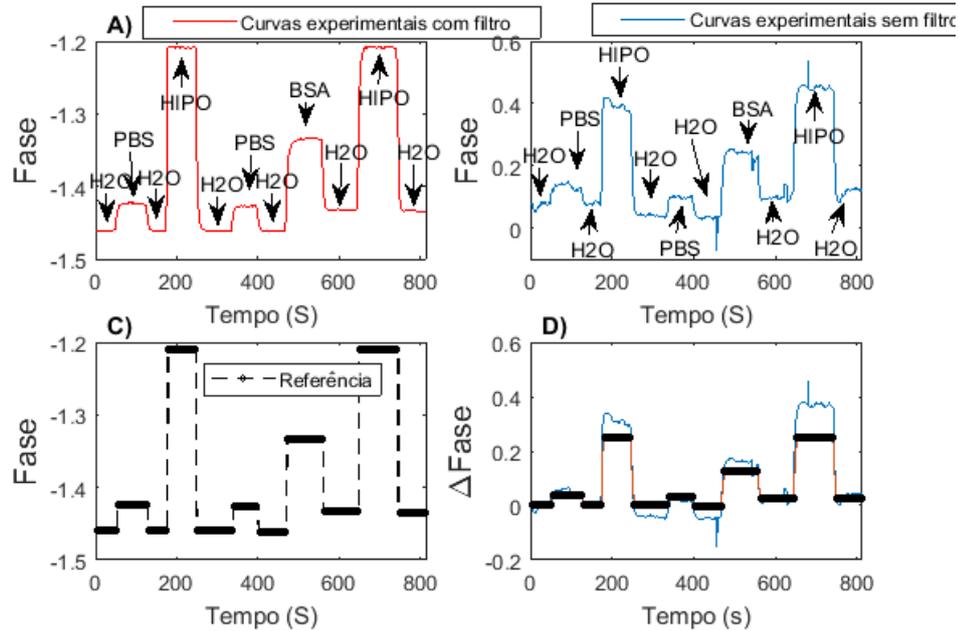


Tabela 12 – Comparativo entre fase teórica (FT), fase experimental sem filtro (*Fraw*) e fase experimental com filtro (F-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo WIM

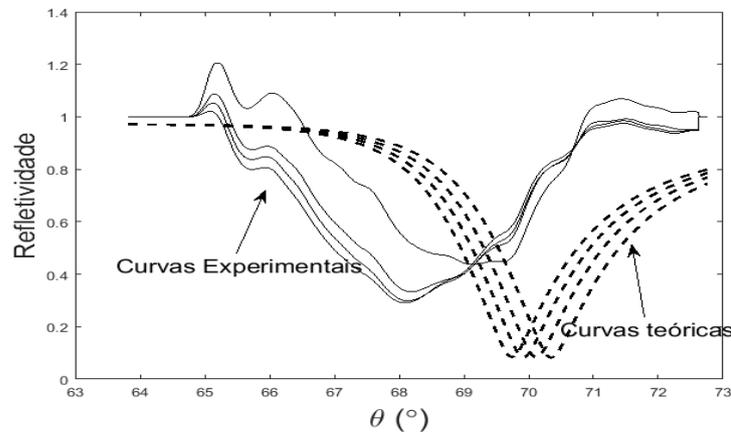
Substância	FT (nm)	<i>Fraw</i> (nm)	F-NNSF (nm)
$H_2O$	1,46	0,081	1,461
PBS	1,423	0,092	1,423
BSA	1,334	0,2389	1,333
HIPO	1,209	0,393	1,208

#### 4.2 NNSF Para Ouro e BK7 em Modo AIM

Por meio de procedimento experimental realizado com o PPBIO para a multicamada constituída por Ouro e BK7, em modo AIM, seguiu-se o protocolo experimental:  $H_2O \rightarrow$  Hipoclorito  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  PBS  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  BSA  $\rightarrow$  PBS  $\rightarrow$  Hipoclorito. Obteve-se uma amostra com 1949 curvas.

Após a realização do procedimento experimental, foram selecionadas as curvas representativas. Selecionou-se 4 curvas que representam o espaço de amostragem. Para cada curva experimental gerou-se uma curva teórica, as oito curvas geradas estão contidas na Figura 39.

Figura 39 – Curvas SPR teóricas e experimentais utilizadas para o treinamento do filtro para a multicamada composta por Ouro e BK7 e modo AIM.



#### 4.2.1 Teste estático

Aplicando-se o método de coeficientes de distorção, obteve-se a MCD contida em (4.2). Observa-se que a linha 3 apresenta coeficientes maiores que 0,8, conforme a seção 3.5 este fato embasa a utilização da RNA MLP sem comitê dinâmico. Segue-se com o treinamento da RNA [3:13:13:1].

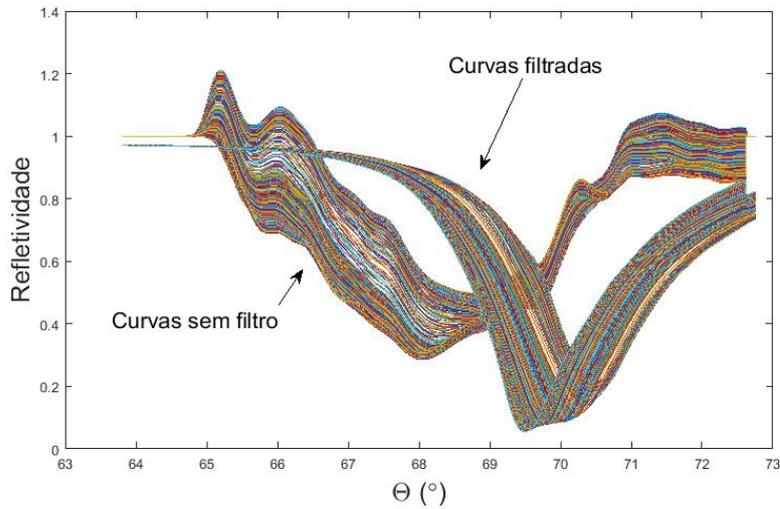
$$MCD = \begin{matrix} & \begin{matrix} \mathbf{H_2O} & \mathbf{PBS} & \mathbf{BSA} & \mathbf{Hipo.} \end{matrix} \\ \begin{matrix} \mathbf{H_2O} \\ \mathbf{PBS} \\ \mathbf{BSA} \\ \mathbf{Hipo.} \end{matrix} & \begin{bmatrix} 1,0000 & 0,8938 & 0,8282 & 0,7071 \\ 0,8938 & 1,0000 & 0,9266 & 0,7910 \\ 0,8282 & 0,9266 & 1,0000 & 0,8537 \\ 0,7071 & 0,7910 & 0,8537 & 1,0000 \end{bmatrix} \end{matrix} \quad (4.2)$$

Após o treinamento, seleciona-se a curva SPR 1014 para realizar a validação, registra-se um ICMV = 0,99 e EMQ na ordem de  $10^{-6}$ . Aplicando-se o teste à curva SPR 1600 obtém-se um ICMT = 0,98.

#### 4.2.2 Teste dinâmico

Após validações do filtro, por meio dos testes estáticos, seguiu-se com a realização de testes dinâmicos, aplicando-se 1949 curvas na entrada do filtro observam-se 1949 curvas de saída, filtradas, conforme Figura 40. O filtro teve seu comportamento atestado, removendo os ruídos generalistas selecionados na fase de treinamento, não sendo afetado por cinéticas químicas oriundas das transições entre substâncias com diferentes índices de refração.

Figura 40 – Curvas obtidas com a aplicação do filtro em comparação com as curvas experimentais de entrada



Observa-se que a forma da curva SPR após o filtro mudou significativamente, o ângulo mínimo foi deslocado da região de  $68^\circ$  para a região de  $70^\circ$ , praticamente coincidindo com a curva teórica, observa-se o desaparecimento da forma ondulada vista na região entre  $65^\circ$  e  $66^\circ$  da curva experimental e observa-se o aumento do contraste/profundidade na refletividade para ângulo de ressonância.

Para por em prova o impacto do filtro sobre a resposta do sensor SPR foram gerados cinco sensorgramas que comparam a variação entre as curvas sem filtro e com filtro para as características de ângulo de ressonância, largura, assimetria, energia e fase.

O sensorgrama que demonstra o ângulo de ressonância pode ser visto na Figura 41. Para a variação de  $\theta_R$  houve uma maior distinção para a região do PBS e BSA, mantendo a cinética das reações envolvidas. Sem o filtro o sensor apresentou o valor de  $\Delta\theta_R = 0,1^\circ$  e com o NNSF um valor de  $\Delta\theta_R = 0,22^\circ$  para o PBS. A variação de IR para a transição  $H_2O \rightarrow PBS$  é de  $1,337 \times 10^{-3} RIU$ , acarretando em valores de Sensibilidade  $S_\theta = 119,69^\circ / RIU$  sem o filtro e de  $128,28^\circ / RIU$  com o NNSF, registrou-se um aumento de 7% na sensibilidade.

Os valores quantitativos de cada região do sensorgrama de ângulo de ressonância podem ser observado na Tabela 13, onde claramente percebe-se que as curvas filtradas exibem características semelhante as curvas teóricas utilizadas no treinamento.

Para mensurar a influência do filtro sobre a largura da curva pode-se observar o sensorgrama de largura contido na Figura 42, percebe-se a melhor delimitação de cada região, bem como uma maior estabilização na resposta com filtro. Os valores das regiões de regime permanente são observadas na Tabela 14.

Figura 41 – Sensorgrama de ângulo de ressonância, consiste em plotar o ângulo mínimo de cada curva SPR no tempo por meio do Minimum Hunt.

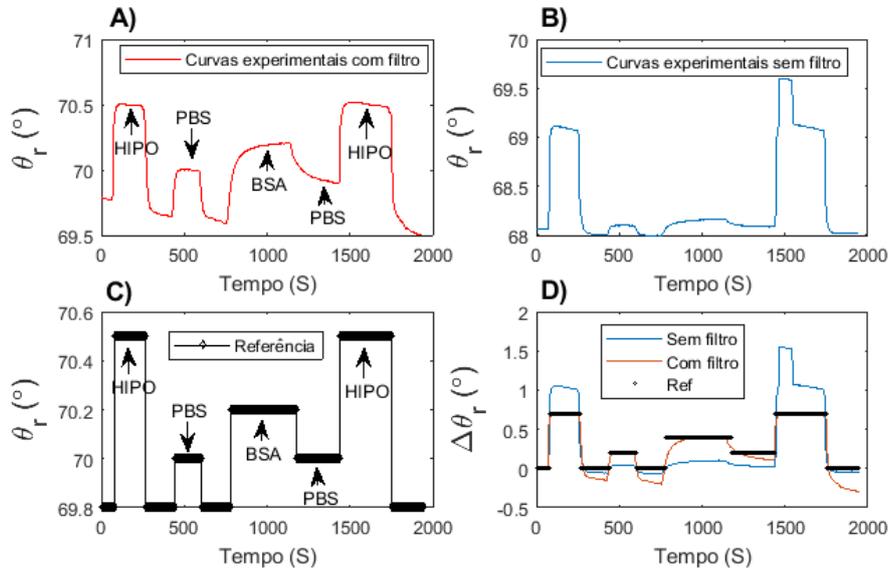


Tabela 13 – Comparativo entre o  $\theta_R$  teórico ( $\theta_{RT}$ ),  $\theta_R$  experimental sem filtro ( $\theta_{Rraw}$ ) e  $\theta_R$  experimental com filtro ( $\theta_{R-NNSF}$ ), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo AIM

Substância	$\theta_{RT}$ (°)	$\theta_{Rraw}$ (°)	$\theta_{R-NNSF}$ (°)
$H_2O$	69.8	68	69.78
PBS	70	68.1	70
BSA	70.2	68.15	70.19
HIPO	70.5	69.08	70.5

Figura 42 – Sensorgrama de largura para a multicamada Au/Bk7 AIM.

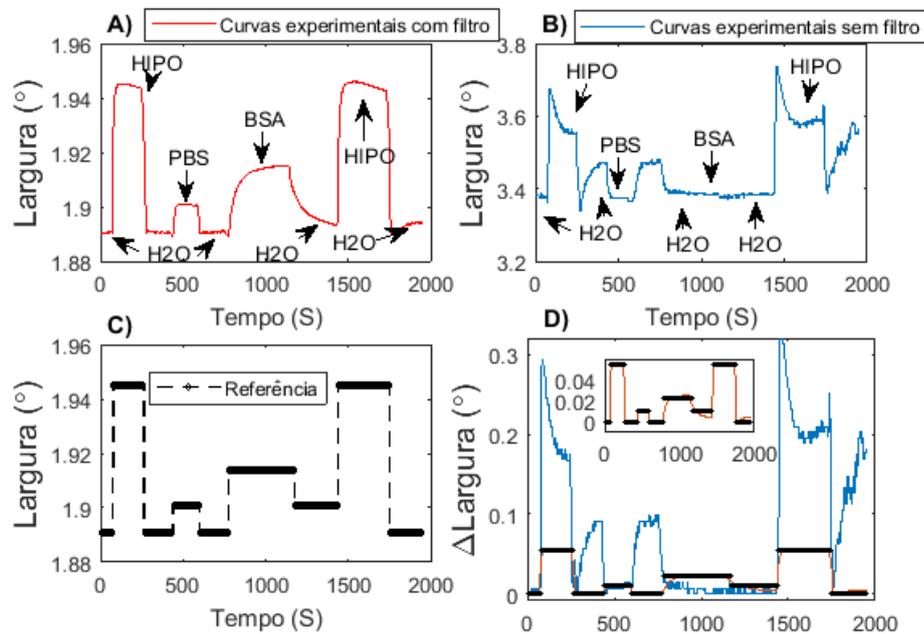


Tabela 14 – Comparativo entre largura teórica (LT), Largura experimental sem filtro ( $L_{raw}$ ) e largura experimental com filtro (L-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo AIM

Substância	LT (nm)	$L_{raw}$ (nm)	L-NNSF (nm)
$H_2O$	1,891	3.374	1,891
PBS	1,901	3.374	1,901
BSA	1,914	3.388	1,915
HIPO	1,945	3.591	1,945

O nível de assimetria de uma curva, também utilizado como parâmetro de sensoriamento, está delimitado conforme a Figura 43. Com a aplicação do filtro observou-se regiões melhores delimitadas. No sensorgrama de assimetria sem filtro, não observa-se delimitação das regiões.

Figura 43 – Sensorgrama de assimetria para a multicamada de Au/Bk7 AIM

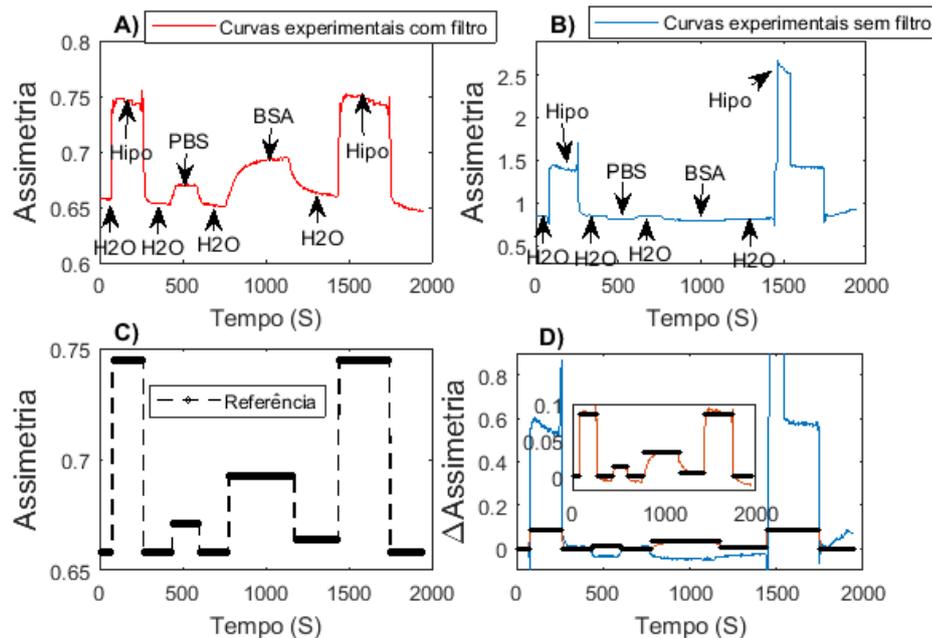


Tabela 15 – Comparativo entre assimetria teórica (AT), assimetria experimental sem filtro ( $A_{raw}$ ) e assimetria experimental com filtro (A-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo AIM

Substância	AT (nm)	$A_{raw}$ (nm)	A-NNSF (nm)
$H_2O$	0,658	0,8534	0,6541
PBS	0,6708	0,812	0,6702
BSA	0,6924	0,7993	0,6925
HIPO	0,7446	1,396	0,7482

O sensorgrama de energia contido na Figura 45, demonstra que após a filtragem

as curvas apresentaram menor energia devido a redução do contraste/profundidade, das curvas filtradas. As regiões de regime permanente podem ser observadas na Tabela 16.

Figura 44 – Sensorgrama de variação de energia, consiste em plotar a variação de energia para cada curva SPR no tempo.

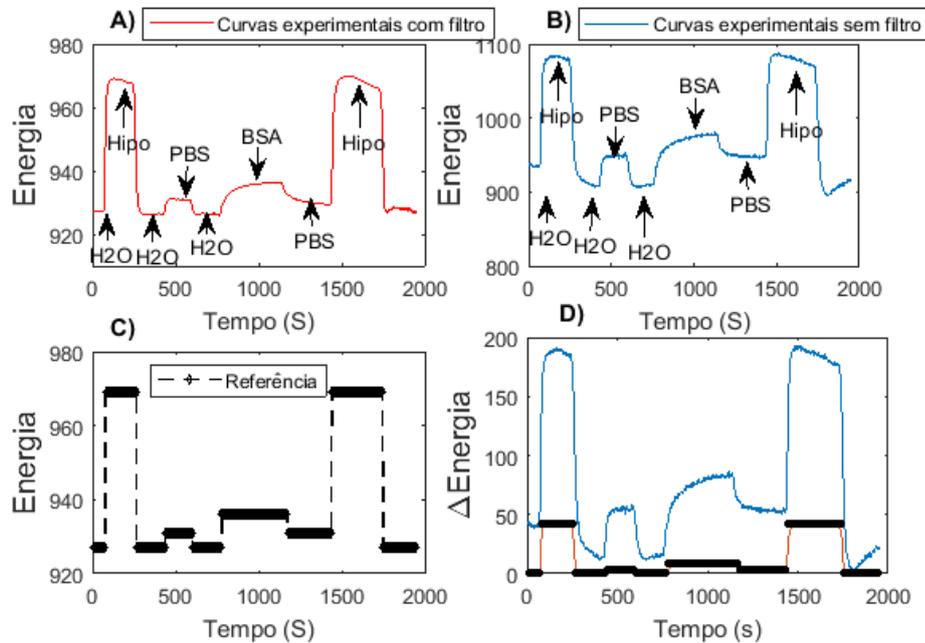


Tabela 16 – Comparativo entre energia teórica (ET), energia experimental sem filtro ( $E_{raw}$ ) e energia experimental com filtro (E-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo AIM

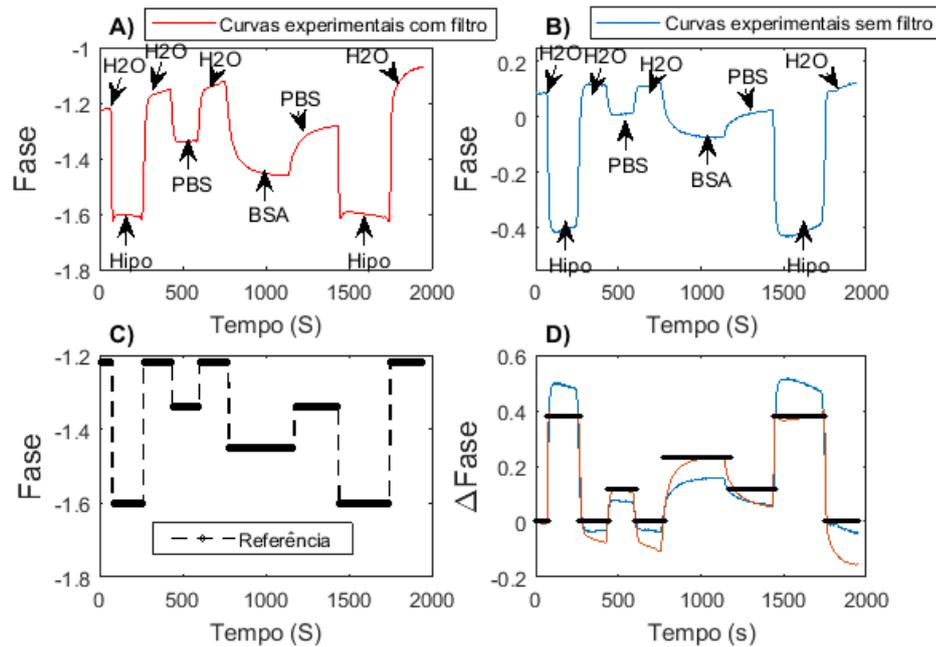
Substância	ET	$E_{raw}$	E-NNSF
$H_2O$	927	909.2	926.4
PBS	931	949.7	931
BSA	936	973.5	935.8
HIPO	969	1083	968.7

Por fim, observa-se o sensorgrama de fase na Figura 45, observa-se a remoção de ruídos pontuais e regiões permanentes melhores delimitadas, conforme Tabela 17.

Tabela 17 – Comparativo entre fase teórica (FT), fase experimental sem filtro ( $F_{raw}$ ) e fase experimental com filtro (F-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo WIM

Substância	FT (nm)	$F_{raw}$ (nm)	F-NNSF (nm)
$H_2O$	1,221	0,1144	1,165
PBS	1,34	0,007	1,339
BSA	1,452	0,068	1,453
HIPO	1,602	0,405	1,597

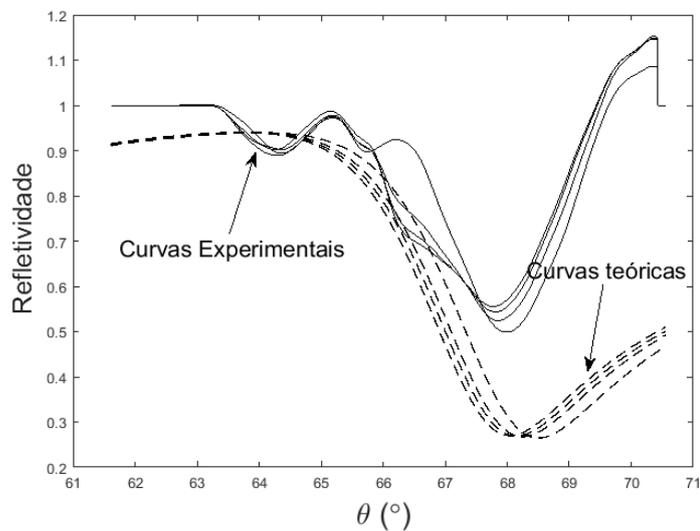
Figura 45 – Sensorgrama de fase para a multicamada Au/Bk7 AIM



### 4.3 NNSF Para Alumínio e BK7 em Modo AIM

Para a estrutura multicamada composta por alumínio e BK7 em modo AIM utilizou-se o protocolo experimental:  $H_2O \rightarrow$  Ethanol 25%  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  Ethanol 12,5%  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  BSA  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  Ethanol 12,5%  $\rightarrow H_2O$ , obtendo-se 1279 curvas, dentre as quais selecionou-se 4 curvas experimentais conforme a Figura 46.

Figura 46 – Curvas utilizadas para o treinamento da RNA, sistema multicamada alumínio e BK7 em modo AIM



#### 4.3.1 Teste estático

A matriz de coeficientes de distorção baseada nas curvas de treinamento presentes na Figura 46 descartam a necessidade de utilização do comitê dinâmico. Os coeficientes apresentam-se conforme (4.3).

$$MCD = \begin{vmatrix} & \mathbf{H_2O} & \mathbf{ET 12\%} & \mathbf{BSA} & \mathbf{ET 25\%} \\ \mathbf{H_2O} & 1,0000 & 0,9663 & 0,9264 & 0,8872 \\ \mathbf{ET 12\%} & 0,9663 & 1,0000 & 0,9588 & 0,9181 \\ \mathbf{BSA} & 0,9264 & 0,9588 & 1,0000 & 0,9576 \\ \mathbf{ET 25\%} & 0,8872 & 0,9181 & 0,9576 & 1,0000 \end{vmatrix} \quad (4.3)$$

Observa-se que as curvas apresentam distorções correlacionadas, em que o menor coeficiente é verificado entre a curva do ethanol 25 % e a curva de  $H_2O$  apresentando valor de 0,8872. Durante a etapa de treinamento a validação foi realizada por meio da curva SPR 630, obtendo-se um ICMV de 0,99 e um EMQ =  $10^{-6}$ . Para teste da RNA utilizou-se a curva SPR 119 obtendo-se um ICMT de 0,97.

#### 4.3.2 Teste dinâmico

Aplicando-se o filtro para as 1279 curvas experimentais provenientes do protocolo experimental supracitado, obtém-se as curvas experimentais filtradas, que estão contidas na Figura 47. Observa-se que o filtro foi capaz de promover uma melhor forma para a curva spr, aspectos como largura, ângulo de ressonância e assimetria podem ser observados com maior clareza, ruídos provenientes da rugosidade do alumínio e espalhamento ótico que geram as ondulações vistas na região de  $64^\circ < \theta < 67^\circ$  foram contornados.

Para verificar a capacidade de aprendizagem da RNA quanto as características de forma das curvas, realizam-se os testes dinâmicos. Por meio do sensorgrama de ângulo de ressonância observado na Figura 48 e sumariado na Tabela 18, observa-se que a região do BSA, antes contida em  $67.77^\circ$ , após o filtro obteve maior destaque na região de  $68.14^\circ$ . O sensorgrama das curvas filtradas demonstram menor nível de ruído no regime permanente. Os valores teóricos representam as características das curvas utilizadas no treinamento.

Sem o filtro registrou-se  $\Delta\theta_R = 0,01^\circ$  e com o NNSF um valor de  $\Delta\theta_R = 0,07^\circ$  para o BSA. A variação de IR para a transição  $H_2O \rightarrow BSA$  é de  $7.03 \times 10^{-5}$ RIU, acarretando em valores

Figura 47 – Curvas utilizadas para o treinamento da RNA, sistema multicamada alumínio e BK7 em modo AIM

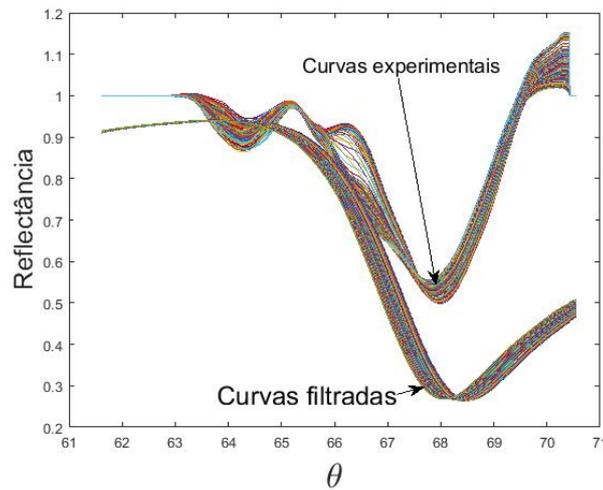
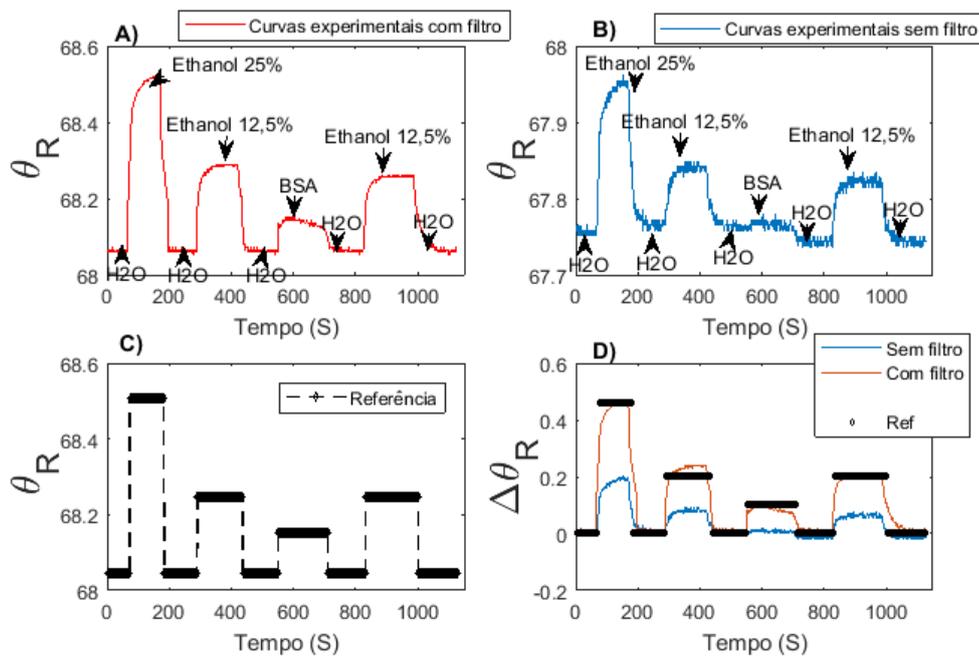


Figura 48 – Sensorgrama de ângulo de ressonância para o sistema multicamada Alumínio e BK7



de Sensibilidade  $S_\theta = 118,6^\circ/\text{RIU}$  sem o filtro e de  $144,43^\circ/\text{RIU}$  com o NNSF, promovendo o aumento de 18% na sensibilidade.

Através do sensorgrama de largura demonstrado na Figura 49, observa-se que para as curvas filtradas o sensorgrama desempenha uma melhor característica de forma. O sensorgrama das curvas experimentais sem filtro não exibe boa delimitação entre as regiões, tornando-se necessário a utilização de outros meios para detecção de largura, após a aplicação do filtro observa-se claramente regiões bem delimitadas no sensorgrama, tornando-se possível a utilização da medida de largura como meio de sensoriamento. Através deste sensorgrama observa-se que

Tabela 18 – Comparativo entre o  $\theta_R$  teórico ( $\theta_{RT}$ ),  $\theta_R$  experimental sem filtro ( $\theta_{Rraw}$ ) e  $\theta_R$  experimental com filtro ( $\theta_{R-NNSF}$ ), para a multicamada composta por Alumínio e BK7 em modo AIM

Substância	$\theta_{RT}$ (°)	$\theta_{Rraw}$ (°)	$\theta_{R-NNSF}$ (°)
$H_2O$	68.05	67.76	68.07
BSA	68.15	67.77	68.14
ET12.5%	68.25	67.83	68.29
ET25%	68.51	67.95	68.51

a largura decresce em relação a substância de referência  $H_2O$ . Os valores de cada região são observados na Tabela 19 .

Figura 49 – Sensorgrama de largura para o sistema multicamada Alumínio e BK7

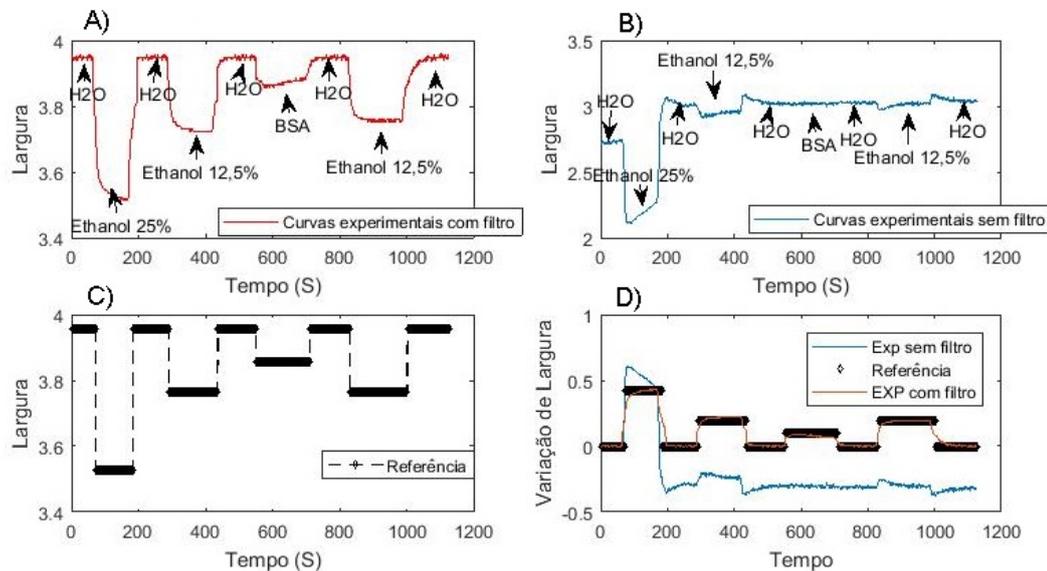


Tabela 19 – Comparativo entre largura teórica (LT), Largura experimental sem filtro ( $L_{raw}$ ) e largura experimental com filtro (L-NNSF), para a multicamada composta por Alumínio e BK7 em modo AIM

Substância	LT (nm)	$L_{raw}$ (nm)	L-NNSF (nm)
$H_2O$	3.955	3.094	3.955
BSA	3.857	3.01	3.878
ET12.5%	3.766	2.947	3.724
ET25%	3.528	2.184	3.542

O sensorgrama de assimetria pode ser visto na Figura 50, assim como na largura o sensorgrama de assimetria sem filtro demonstra baixa delimitação entre as amplitudes, após a aplicação do filtro é observado claramente a amplitude de assimetria de cada substância. Na Tabela 25 exibem-se os valores de referência, adotados durante o treinamento, bem como o

valores experimentais sem filtro e com filtro.

Figura 50 – Sensorgrama de assimetria para o sistema multicamada Alumínio e BK7

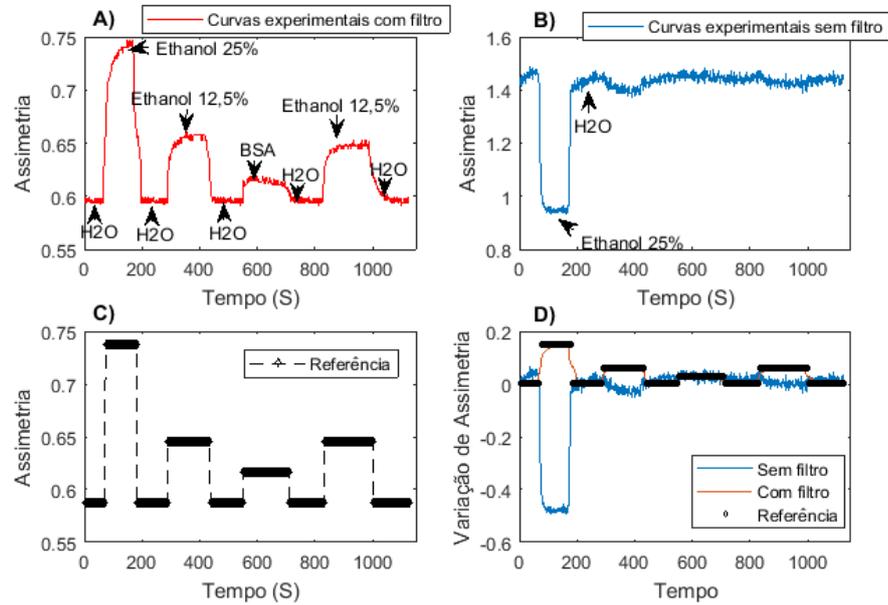


Tabela 20 – Comparativo entre assimetria teórica (AT), assimetria experimental sem filtro ( $A_{raw}$ ) e assimetria experimental com filtro (A-NNSF), para a multicamada composta por Alumínio e BK7 em modo AIM

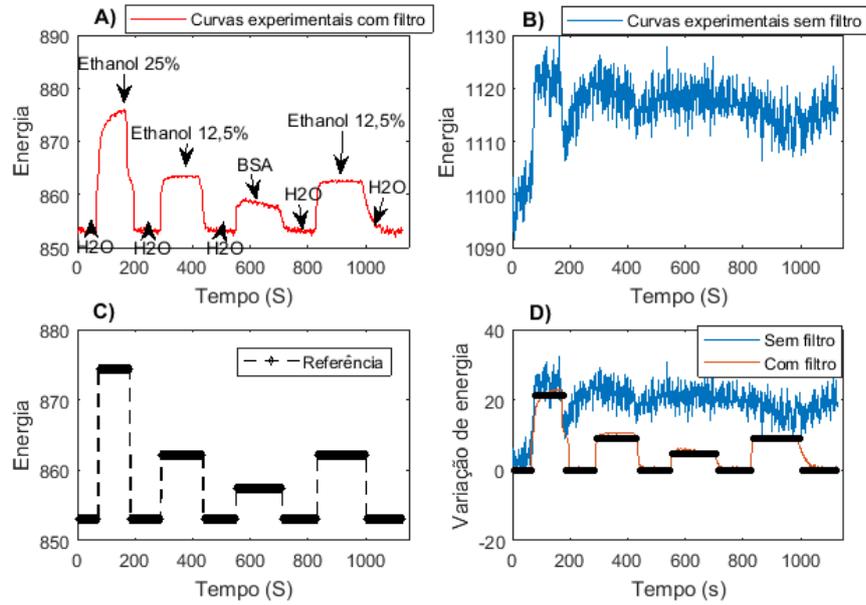
Substância	AT (nm)	$A_{raw}$ (nm)	A-NNSF (nm)
$H_2O$	0,5871	1,435	0,5994
BSA	0,6158	1,427	0,614
ET12.5%	0,6453	1,398	0,6522
ET25%	0,7379	0,956	0,7379

Os sensorgramas de energia podem ser observados na Figura 51, bem como os valores de regime permanente são observados na Tabela 21.

Tabela 21 – Comparativo entre energia teórica (ET), energia experimental sem filtro ( $E_{raw}$ ) e energia experimental com filtro (E-NNSF), para a multicamada composta por Alumínio e BK7 em modo AIM

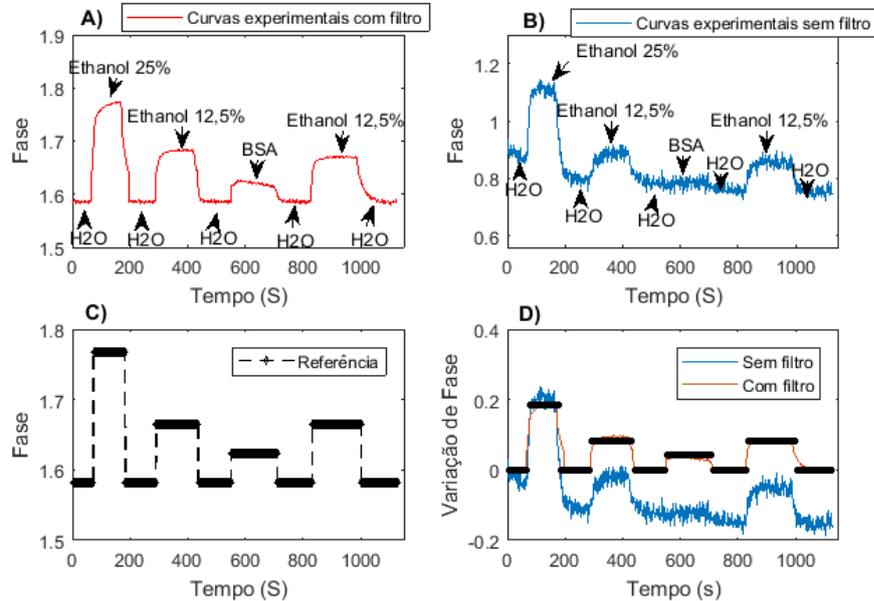
Substância	ET	$E_{raw}$	E-NNSF
$H_2O$	853	1121	853.3
BSA	857.4	1111	857.5
ET12.5%	862.1	1124	863.3
ET25%	874.4	1123	875.2

Figura 51 – Sensorgrama de energia para o sistema multicamada Al/BK7 AIM



Os sensorgramas de fase são vistos na Figura 52). Os valores de regime permanente são observados da Tabela 22.

Figura 52 – Sensorgrama de fase para o sistema multicamada Al/BK7 AIM.



#### 4.4 NNSF Para alumínio e BK7 em modo WIM

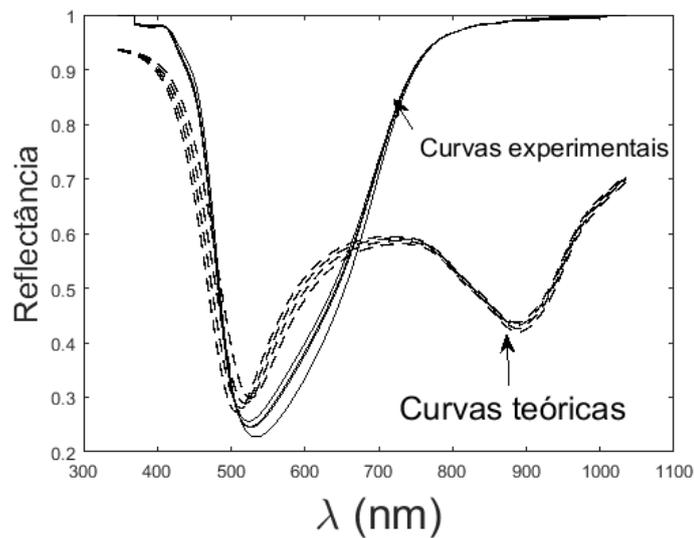
Para a estrutura multicamada composta por alumínio e BK7 em modo WIM utilizou-se o protocolo experimental:  $H_2O \rightarrow$  Ethanol 6.5%  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  Ethanol 3.1%  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  BSA  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  Ethanol 6.5%  $\rightarrow H_2O$ , obtendo-se 740 curvas, selecionando-se 4 para o treinamento

Tabela 22 – Comparativo entre fase teórica (FT), fase experimental sem filtro ( $F_{raw}$ ) e fase experimental com filtro (F-NNSF), para a multicamada Al/BK7 AIM

Substância	ET	$E_{raw}$	E-NNSF
$H_2O$	1,582	0,7643	1,585
PBS	1,624	0,7585	1,625
BSA	1,666	0,8981	1,681
HIPO	1,768	1,116	1,769

da RNA, conforme Figura 53.

Figura 53 – Curvas utilizadas para o treinamento da RNA, sistema multicamada Al/BK7 WIM



#### 4.4.1 Teste estático

A matriz de coeficientes de distorção baseada nas curvas de treinamento presentes na Figura 53 descartam a necessidade de utilização do comitê dinâmico. Os coeficientes apresentam-se conforme (4.4).

$$MCD = \begin{vmatrix} & \mathbf{H_2O} & \mathbf{ET 3.1\%} & \mathbf{BSA} & \mathbf{ET 6.5\%} \\ \mathbf{H_2O} & 1,0000 & 0,9882 & 0,9727 & 0,9869 \\ \mathbf{ET 3.1\%} & 0,9882 & 1,0000 & 0,9843 & 0,9988 \\ \mathbf{BSA} & 0,9727 & 0,9843 & 1,0000 & 0,9856 \\ \mathbf{ET 6.5\%} & 0,9869 & 0,9988 & 0,9856 & 1,0000 \end{vmatrix} \quad (4.4)$$

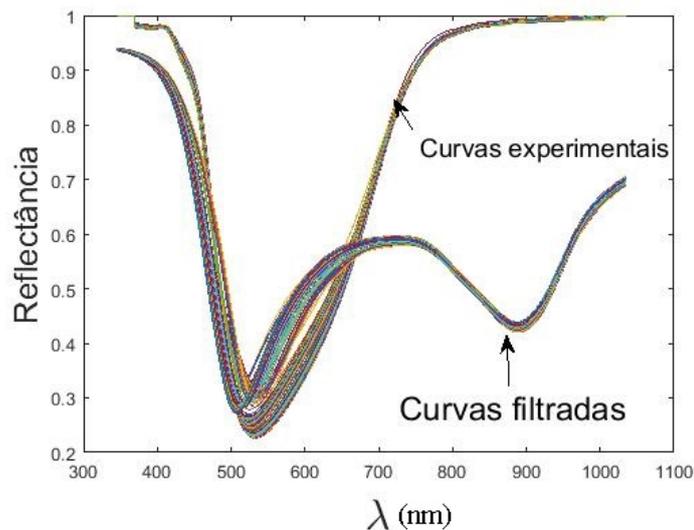
Após a verificação da MCD treina-se o NNSF. Para validar o treinamento utiliza-se a curva SPR 454 obtendo-se um EMQ na ordem de  $10^{-6}$  e ICMV = 0,99. Para teste da RNA

utiliza-se a curva SPR 95 com um ICMT =0,96.

#### 4.4.2 Teste dinâmico

As curvas experimentais filtradas estão contidas na Figura 54, para a estrutura multicamada constituída por Alumínio e BK7 existe uma segunda posição de ressonância menos acentuada, que ocorre na região de comprimento de onda em 900 nm, este segundo mínimo é devido as propriedades do óxido de alumínio (Lima *et al.*, 2017), todavia não é possível observar tal fenômeno nas curvas experimentais, após a filtragem torna-se nítida o aparecimento desta região.

Figura 54 – Curvas utilizadas para o treinamento da RNA, sistema multicamada alumínio e BK7 em modo WIM



Os sensorgramas de comprimento de onda de ressonância (Figura 55), foram plotados para o primeiro mínimo de cada curva, constituindo a região próxima a 700 nm, observa-se maior variação com a aplicação do filtro. Quanto ao segundo mínimo, não pode-se estabelecer uma comparação, pois este fenômeno não é observado nas curvas experimentais. A Tabela 23 demonstra as regiões de regime permanente.

A curva filtrada apresenta profundidade/contraste mais acentuados favorecendo a detecção da posição de ressonância. Para o etanol 3.1%, com  $\Delta IR = 9.5 \times 10^{-4}$  RIU, o sensor apresentou o valor de  $\Delta_{RR} = 1,7$  nm sem o filtro e  $\Delta\lambda_R = 5.5$  com o NNSF. Esses valores correspondem a Sensibilidade ( $S_\lambda = 1638,83 \text{ nm}/\text{RIU}$  e de  $5.744,8 \text{ nm}/\text{RIU}$  respectivamente, um aumento de 71,5%.

Figura 55 – Sensorgrama de ângulo de ressonância para o sistema multicamada Alumínio e BK7

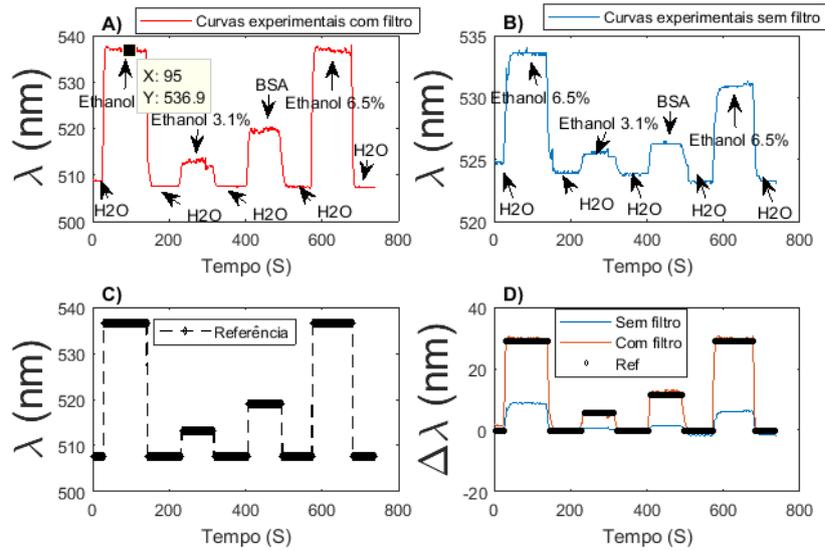


Tabela 23 – Comparativo entre o  $\lambda_R$  teórico ( $\lambda_{RT}$ ),  $\lambda_R$  experimental sem filtro ( $\lambda_{Rraw}$ ) e  $\lambda_R$  experimental com filtro ( $\lambda_{R-NNSF}$ ), para a multicamada composta por Alumínio e BK7 em modo WIM

Substância	$\lambda_{RT}$ (nm)	$\lambda_{Rraw}$ (nm)	$\lambda_{R-NNSF}$ (nm)
$H_2O$	507.7	523.8	507.5
ET 3.1%	513.2	525.5	513
BSA	519.1	526.3	519.6
ET 6.5%	536.5	531	536.7

Os sensorgramas de largura estão contidos na Figura 56, e as regiões de regime permanente são demonstradas na Tabela 24.

Figura 56 – Sensorgrama de largura para o sistema multicamada Alumínio e BK7

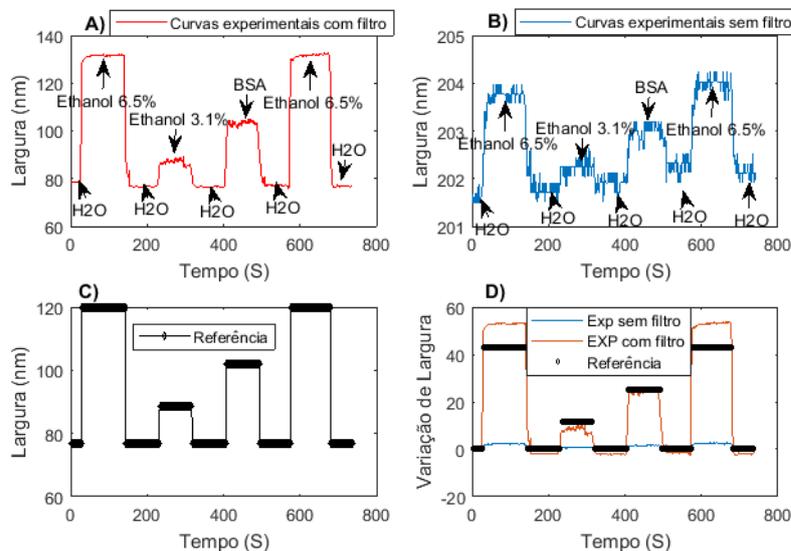


Tabela 24 – Comparativo entre largura teórica (LT), Largura experimental sem filtro ( $L_{raw}$ ) e largura experimental com filtro (L-NNSF), para a multicamada composta por Alumínio e BK7 em modo WIM

Substância	LT (nm)	$L_{raw}$ (nm)	L-NNSF (nm)
$H_2O$	76.83	201.7	76.83
ET 3.1%	88.45	202.2	88.25
BSA	101.8	203	103.2
ET 6.5%	119.7	203.8	131.4

Os sensorgramas de assimetria estão exibidos na Figura 57, as amplitudes de regime permanente estão contidas na Tabela 25.

Figura 57 – Sensorgrama de assimetria para o sistema multicamada Alumínio e BK7

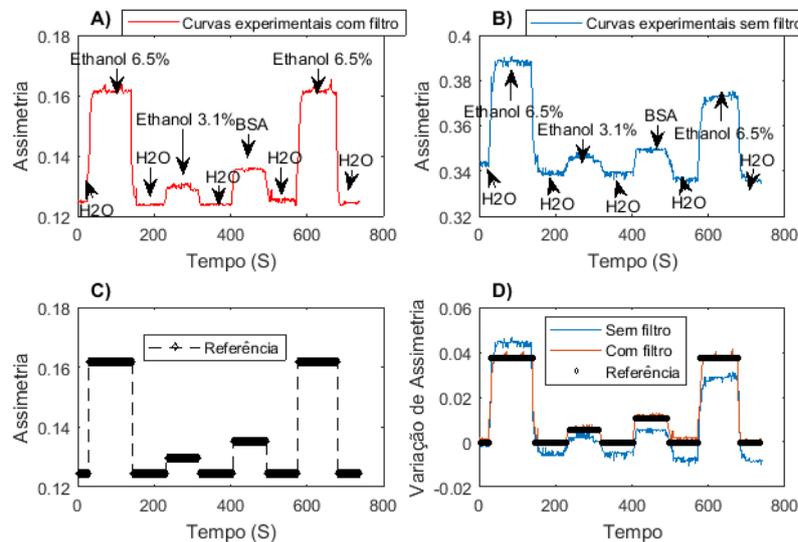


Tabela 25 – Comparativo entre assimetria teórica (AT), assimetria experimental sem filtro ( $A_{raw}$ ) e assimetria experimental com filtro (A-NNSF), para a multicamada composta por Alumínio e BK7 em modo WIM

Substância	AT (nm)	$A_{raw}$ (nm)	A-NNSF (nm)
$H_2O$	0,1246	0,3382	0,1251
ET 3.1%	0,1298	0,3478	0,1297
BSA	0,1353	0,3483	0,1354
ET 6.5%	0,1618	0,3886	0,1615

Os sensorgramas de energia (Figura 58) e fase (Figura: 59) concluem as análises dos testes dinâmicos comprovando-se a melhoria na resposta SPR a partir do Filtro RNA. As Tabelas 26 e 27 demonstram numericamente as regiões de regime permanente para a energia e fase das curvas, respectivamente.

Figura 58 – Sensorgrama de energia para o sistema multicamada Alumínio e BK7 em modo WIM

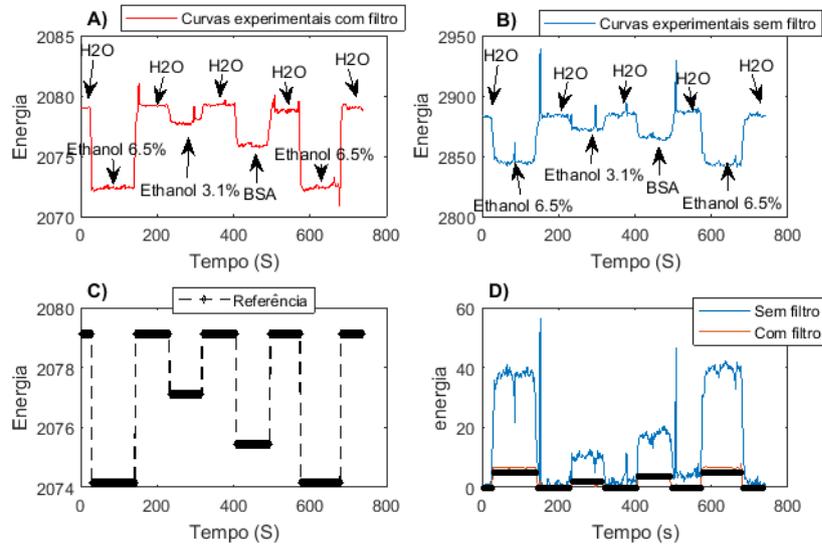


Tabela 26 – Comparativo entre energia teórica (ET), energia experimental sem filtro ( $E_{raw}$ ) e energia experimental com filtro (E-NNSF), para a multicamada composta por Alumínio e BK7 em modo WIM

Substância	ET	$E_{raw}$	E-NNSF
$H_2O$	2079	2884	2079
PBS	2077	2873	2078
BSA	2075	2865	2076
HIPO	2074	2843	2072

Figura 59 – Sensorgrama de fase para o sistema multicamada Alumínio e BK7 WIM

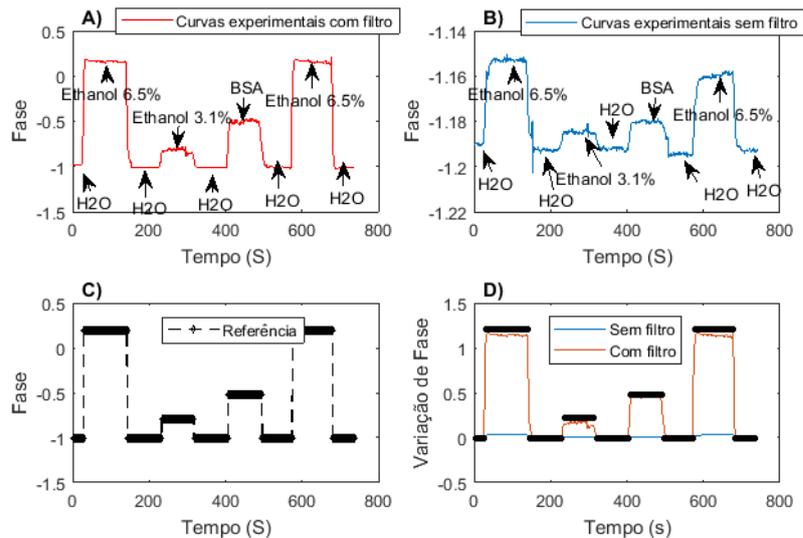


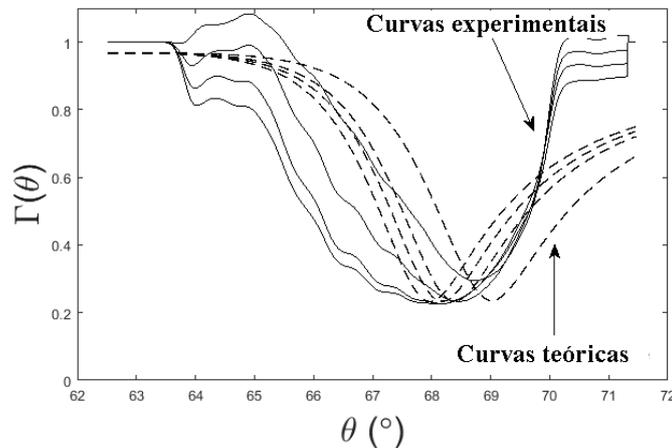
Tabela 27 – Comparativo entre fase teórica (FT), fase experimental sem filtro ( $F_{raw}$ ) e fase experimental com filtro (F-NNSF), para a multicamada composta por Ouro e BK7 em modo WIM

Substância	FT (nm)	$F_{raw}$ (nm)	F-NNSF (nm)
$H_2O$	1,012	1,194	1,014
PBS	0,7894	1,185	0,8202
BSA	0,5285	1,179	0,4983
HIPO	0,1914	1,154	0,162

#### 4.5 NNSF Para Cobre e BK7 em Modo AIM

A estrutura multicamada é composta por um filme fino de Cobre com espessura de 40 nm, depositado sobre BK7. Para o modo AIM utilizou-se o protocolo experimental:  $H_2O \rightarrow$  Ethanol 25%  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  Ethanol 12,5%  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  BSA  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  Ethanol 12,5%  $\rightarrow H_2O$ , com o comprimento de onda incidente de  $\lambda = 670nm$ . A execução do protocolo experimental gerou 1216 curvas, dentre as quais destacam-se na Figura 60 as curvas representativas.

Figura 60 – Curvas utilizadas para o treinamento da RNA, sistema multicamada Cobre e BK7 em modo AIM



##### 4.5.1 Teste estático

Com base nas curvas de treinamento presentes na Figura 60, calcula-se a matriz de coeficientes de distorção contida em (4.5). Observa-se que a segunda linha da matriz apresenta

todos os coeficientes maiores que 0,8, viabilizando a utilização da RNA sem o comitê dinâmico.

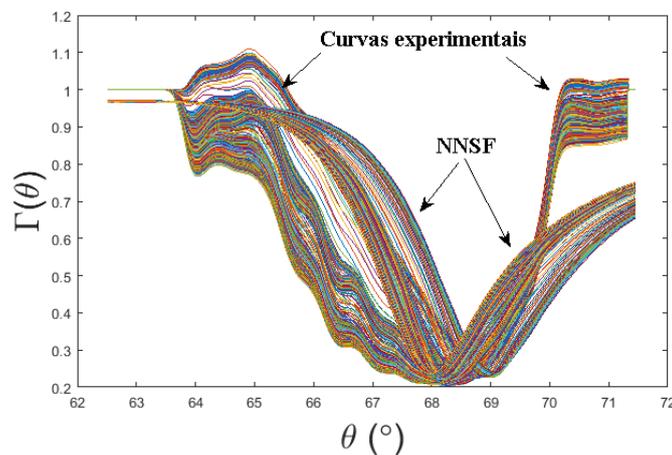
$$MCD = \begin{matrix} & \mathbf{H_2O} & \mathbf{ET\ 12\%} & \mathbf{BSA} & \mathbf{ET\ 25\%} \\ \mathbf{H_2O} & 1,0000 & 0,9554 & 0,7766 & 0,9416 \\ \mathbf{ET\ 12\%} & 0,9554 & 1,0000 & 0,8128 & 0,9856 \\ \mathbf{BSA} & 0,7766 & 0,8128 & 1,0000 & 0,8247 \\ \mathbf{ET\ 25\%} & 0,9416 & 0,9856 & 0,8247 & 1,0000 \end{matrix} \quad (4.5)$$

Na etapa de treinamento efetua-se a validação com a curva SPR 740 obtendo-se um ICMV de 0,98 e um EMQ na ordem de  $10^{-6}$ . O teste da RNA foi realizado por meio da curva SPR 175, resultando em um IMCT de 0,92. Os resultados dos testes estáticos embasam a realização dos testes dinâmicos.

#### 4.5.2 Teste dinâmico

As curvas experimentais filtradas estão contidas na Figura 61. As curvas apresentam profundidade/contraste e posição de ressonância semelhantes à curvas teóricas. Isso deve a um bom acerto na instrumentação e operação do sensor. A posição de ressonância difere em aproximadamente  $0,33^\circ$ , devido a pequenas diferenças entre os valores para as propriedades ópticas do metal usadas na simulação e as obtidas após a deposição do metal. Além disso, a curva experimental apresenta oscilações na região de  $63.5^\circ < \theta < 65.8^\circ$  devido a rugosidade do prisma, levando a excitação dos plasmons radiativos (Neff *et al.*, 2018). Com a aplicação do

Figura 61 – Comportamento do filtro para o arranjo multicamada constituído por Cobre e BK7

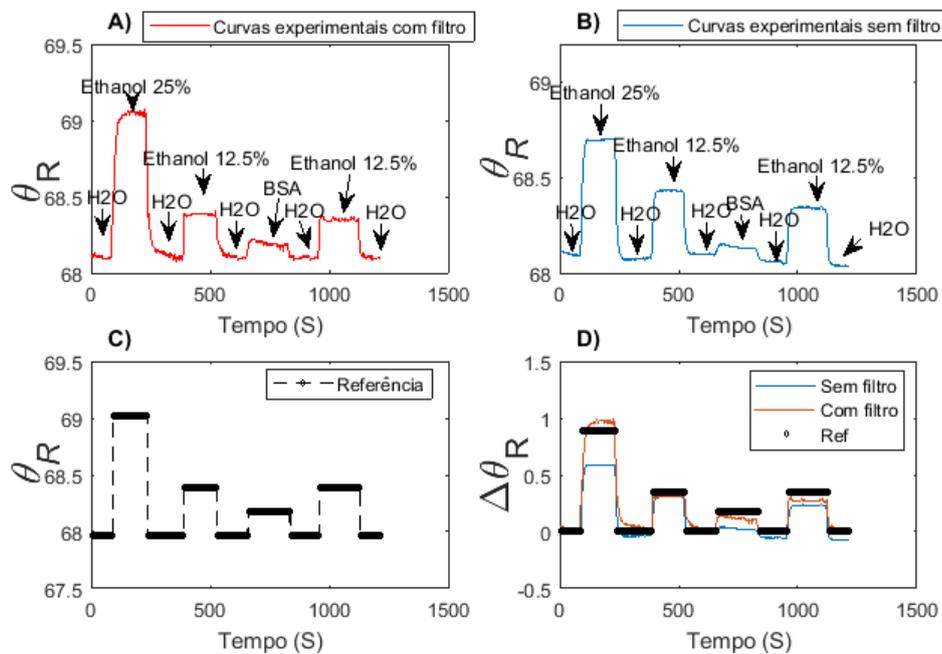


NNSF, as curvas apresentaram melhor disposição do espectro angular, especialmente na posição

de ressonância  $R$ , na região de  $68^\circ < \theta < 69^\circ$ . Ruídos que distorcem a curva experimental na região de  $63.5^\circ < \theta < 67.5^\circ$  foram filtrados, resultando em curvas com largura/assimetria bem definidas.

Através do sensorgrama de ângulo de ressonância representado na Figura 62, demonstra que houve uma maior distinção para a região do ethanol 25% e BSA, mantendo a cinética das reações envolvidas. Sem o filtro o sensor entregou o valor de  $\Delta\theta_R = 0,58^\circ$  e com o NNSF um valor de  $\Delta\theta_R = 0,98^\circ$  para o ethanol 25%. A variação de IR para a transição  $H_2O \rightarrow$  Ethanol 12,5% é de  $6.6 \times 10^{-3}$  RIU, acarretando em valores de Sensibilidade ( $S_\theta = 116,33^\circ/RIU$  sem o filtro e de  $127,31^\circ/RIU$  com o NNSF, um aumento de 8,6%.

Figura 62 – Sensorgrama de ângulo de ressonância para o sistema multicamada Cobre e BK7 em modo AIM



A Tabela 28, exibe os valores teóricos, experimentais e os valores com a aplicação do filtro, demonstra-se que a região permanente de cada substância com a aplicação do filtro aproximou-se dos valores teóricos.

Na Figura 63 observa-se o sensorgrama de largura. Os valores permanentes para cada substância podem ser observados na Tabela 29. A largura decresce em relação a substância de referência ( $H_2O$ ). No sensorgrama referente às curvas filtradas tem-se menor nível de ruído e consequentemente melhor aproximação com a teoria, a variação em relação ao nível de referência é semelhante entre as curvas com filtro e sem filtro.

Com o NNSF o sensorgrama de assimetria apresentou uma região de instabilidade

Tabela 28 – Comparativo entre o  $\theta_R$  teórico ( $\theta_{RT}$ ),  $\theta_R$  experimental sem filtro ( $\theta_{Rraw}$ ) e  $\theta_R$  experimental com filtro ( $\theta_{R-NNSF}$ ), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo AIM

Substância	$\theta_{RT}$ (°)	$\theta_{Rraw}$ (°)	$\theta_{R-NNSF}$ (°)
$H_2O$	67.97	68.1	68.1
BSA	68.18	68.13	68.2
ET12.5%	68.39	68.43	68.39
ET25%	69.02	68.7	69.04

Figura 63 – Sensorgrama de largura para o sistema multicamada Cobre e BK7 em modo AIM

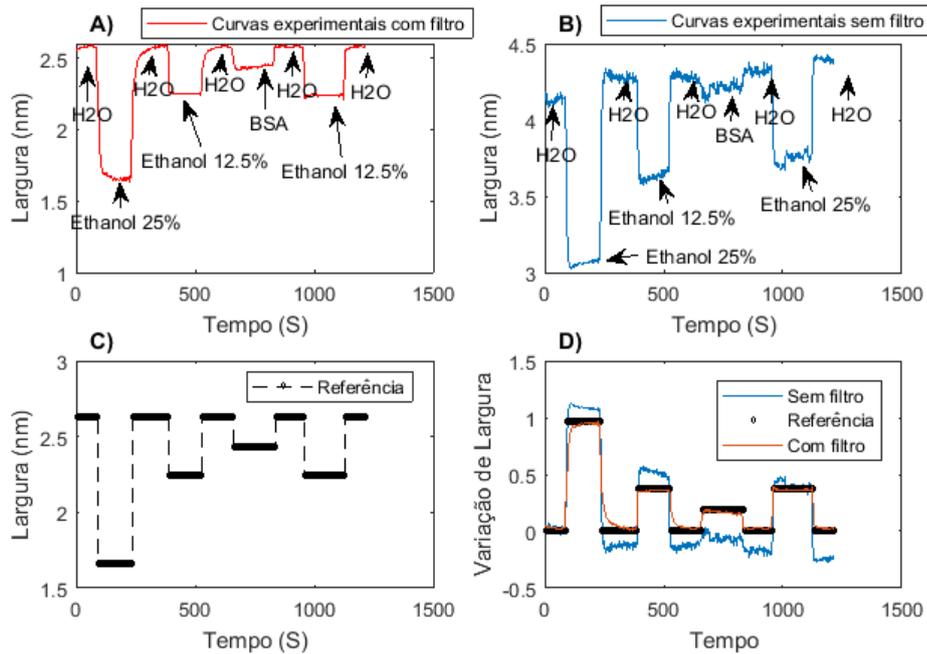


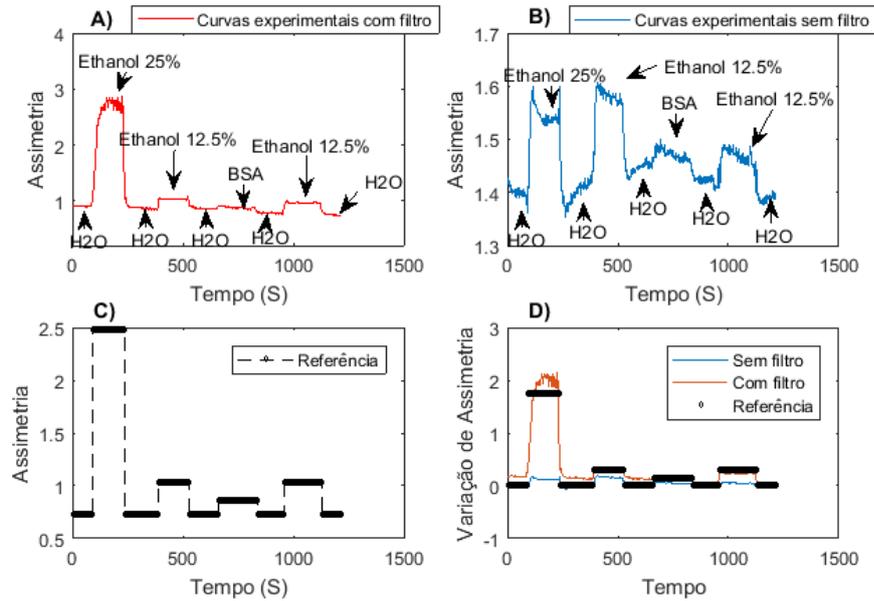
Tabela 29 – Comparativo entre largura teórica (LT), Largura experimental sem filtro ( $L_{raw}$ ) e largura experimental com filtro (L-NNSF), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo AIM

Substância	LT (nm)	$L_{raw}$ (nm)	L-NNSF (nm)
$H_2O$	2.625	4.27	2.569
BSA	2.436	4.2	2.436
ET12.5%	2.247	3.64	2.247
ET25%	1,659	3.08	1,652

para o etanol 25%, contudo, para as curvas sem filtro não é possível distinguir a amplitude da assimetria por substâncias, a aplicação do filtro promoveu uma melhor variação de assimetria e portanto confere a possibilidade de utilização deste sensorgrama como parâmetro de detecção de substâncias. Os valores estão sumarizados na Tabela 30 e na Figura 64.

Quanto ao sensorgrama de energia o filtro apresenta remoção de ruídos na região de etanol 12.5 % e aumento da amplitude de energia para o BSA. Pequenas oscilações foram tratadas

Figura 64 – Sensorgrama de assimetria para o sistema multicamada Cobre e BK7 em modo AIM

Tabela 30 – Comparativo entre assimetria teórica (AT), assimetria experimental sem filtro ( $A_{raw}$ ) e assimetria experimental com filtro (A-NNSF), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo AIM

Substância	AT (nm)	$A_{raw}$ (nm)	A-NNSF (nm)
$H_2O$	0,7281	1,407	0,8586
BSA	0,861	1,467	0,861
ET12.5%	1,032	1,58	1,032
ET25%	2.485	1,541	2.746

assim o NNSF apresenta uma resposta com menor variação. Estes fatores estão numericamente representados na Tabela 31 e na Figura 65.

Tabela 31 – Comparativo entre energia teórica (ET), energia experimental sem filtro ( $E_{raw}$ ) e energia experimental com filtro (E-NNSF), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo AIM

Substância	ET	$E_{raw}$	E-NNSF
$H_2O$	918.7	806.9	923.5
BSA	932.2	804.3	931.3
ET12.5%	947.5	889.7	947.6
ET25%	1007	1012	1006

Os valores de fase comportam-se de forma semelhante aos valores de ângulo de ressonância, a Tabela 32 sumariza os valores de fase de cada região, com filtro, sem filtro e teórico.

Figura 65 – Sensorgrama de energia para o sistema multicamada Cobre e BK7 em modo AIM

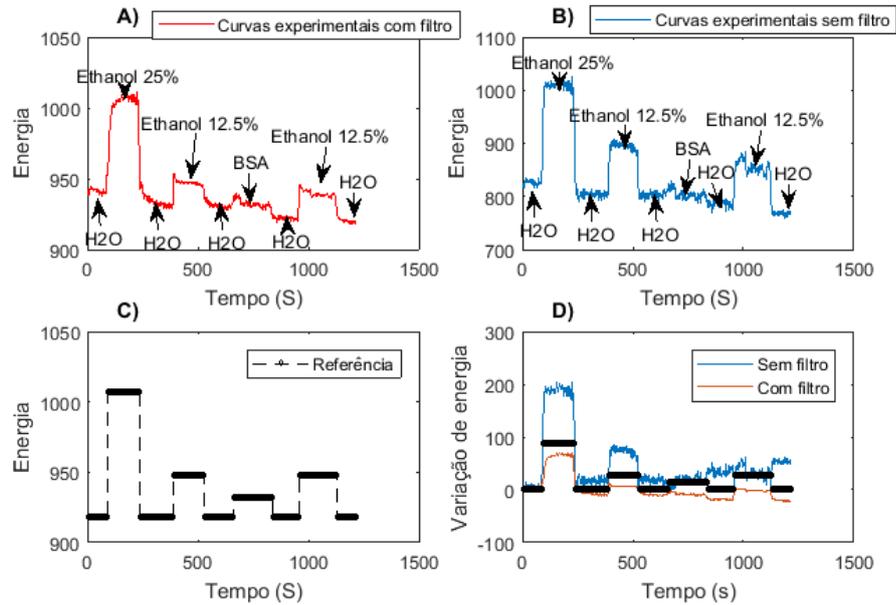
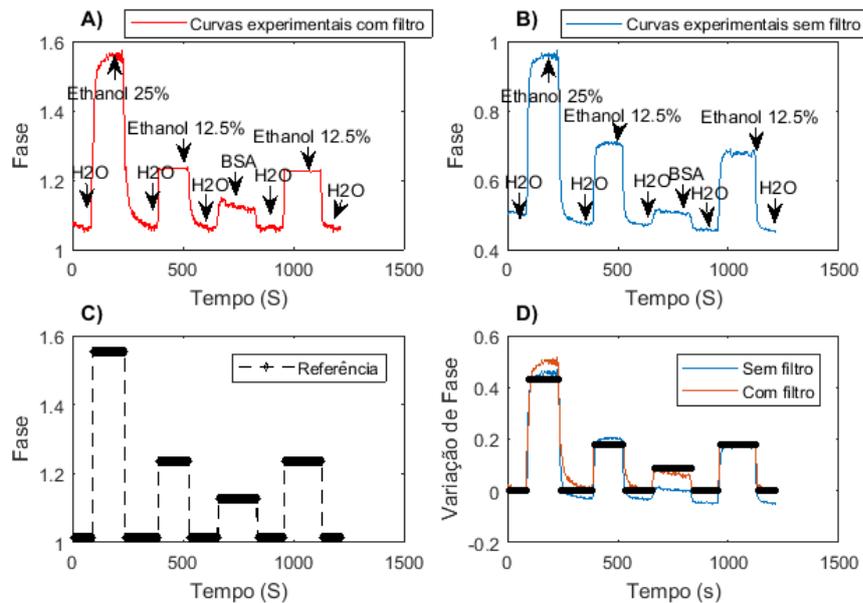


Figura 66 – Sensorgrama de fase para o sistema multicamada cobre e BK7 em modo AIM



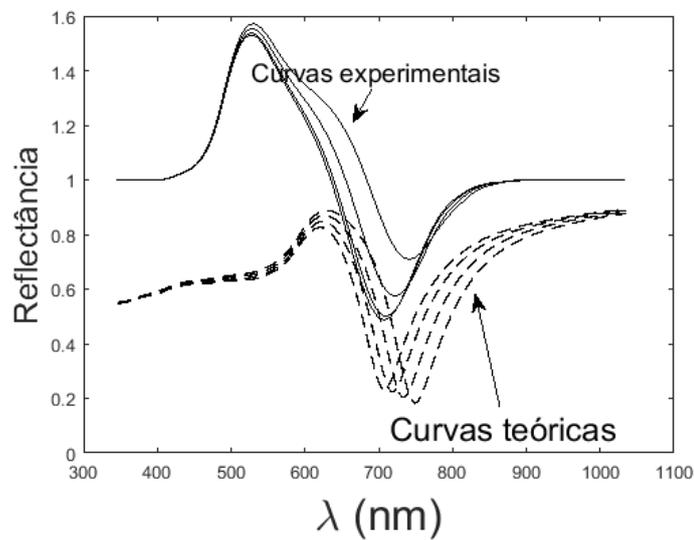
#### 4.6 NNSF Para Cobre e BK7 em Modo WIM

A estrutura multicamada é composta por um filme fino de Cobre com espessura de 40 nm, depositado sobre BK7. Para o modo WIM utilizou-se o protocolo experimental:  $H_2O \rightarrow$  Ethanol 25%  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  Ethanol 12,5%  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  BSA  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  Ethanol 12,5%  $\rightarrow H_2O$ , com o ângulo de onda incidente de  $\theta = 68$ . Com a execução do protocolo experimental foram obtidas 522 curvas SPR. As curvas representativas estão contidas na Figura 67.

Tabela 32 – Comparativo entre fase teórica (FT), fase experimental sem filtro (*Fraw*) e fase experimental com filtro (F-NNSF), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo AIM

Substância	FT (nm)	<i>Fraw</i> (nm)	F-NNSF (nm)
$H_2O$	1,014	0,475	1,07
PBS	1,126	0,5081	1,117
BSA	1,236	0,7037	1,233
HIPO	1,555	0,9469	1,552

Figura 67 – Curvas utilizadas para o treinamento da RNA, sistema multicamada Cobre e BK7 em modo WIM



#### 4.6.1 Teste estático

Com base nas curvas de treinamento presentes na Figura 67, calcula-se a matriz de coeficientes de distorção contida em (4.6) que viabiliza a utilização da RNA sem o comitê dinâmico. Por meio da MCD observa-se boa correlação entre os ruídos contidos em cada curva, demonstrando a existência de ruídos generalistas, esta característica reduz o tempo de treinamento, uma vez que é exigido menor capacidade computacional para reduzir o viés da rede.

$$MCD = \begin{vmatrix} & \mathbf{H_2O} & \mathbf{BSA} & \mathbf{ET 12\%} & \mathbf{ET 25\%} \\ \mathbf{H_2O} & 1,0000 & 0,9855 & 0,9211 & 0,8319 \\ \mathbf{BSA} & 0,9855 & 1,0000 & 0,9347 & 0,8442 \\ \mathbf{ET 12\%} & 0,9211 & 0,9347 & 1,0000 & 0,9032 \\ \mathbf{ET 25\%} & 0,8319 & 0,8442 & 0,9032 & 1,0000 \end{vmatrix} \quad (4.6)$$

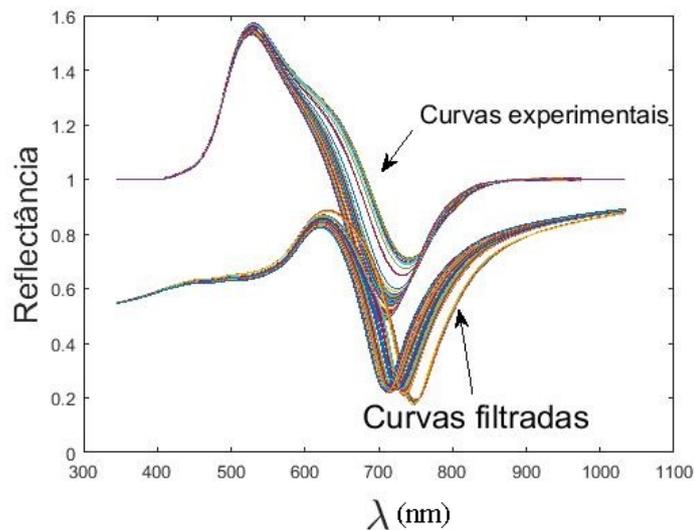
Na etapa de treinamento efetua-se a validação por meio da curva SPR 304, obtendo-

se um erro médio quadrático na ordem de  $10^{-6}$  e um índice de correlação de modelo validado de 0,99. Para o teste do treinamento utilizou-se a curva SPR 60 resultando em um índice de correlação de modelo testado de 0,97. Com a aprovação do treinamento na parte estática, realiza-se o teste dinâmico.

#### 4.6.2 Teste dinâmico

As curvas experimentais filtradas estão contidas na Figura 68, aplicando-se o filtro para a estrutura multicamada constituída por Cobre e BK7 obteve-se melhor disposição dos comprimentos de onda de ressonância para cada curva com base na região de  $700 < \lambda < 750$ . Os

Figura 68 – Comportamento do filtro para o arranjo multicamada constituído por Cobre e BK7 em modo WIM



resultados dinâmicos são observados nos sensorgramas de comprimento de onda de ressonância (Figura 69, largura (Figura: 70), assimetria (Figura: 71) , energia Figura 72) e fase (Figura: 73).

Com a aplicação do filtro obteve-se maior variação de comprimento de onda, especialmente para a região de BSA. Sem o filtro para a região de BSA percebe-se um  $\Delta_R = 2.5$  nm e com o NNSF registra-se  $\Delta_R = 6$  nm. Considerando que  $\Delta IR = 8 \times 10^{-4}$  RIU resultando em  $S_\lambda = 4086,8$  e  $S_\lambda = 5988,20$  respectivamente, verificando-se um melhora de 31,7%. A posição de ressonância bem como as características de forma das curvas foram melhoradas. A Tabela 33 exhibe os valores de comprimento de onda para cada substância.

A largura da curva foi alterada, tornando-se mais próxima a largura teórica, como mostra a Tabela 34. O sensorgrama de largura para as curvas experimentais apresentam valores

Figura 69 – Sensorgrama de comprimento de onda de ressonância para o sistema multicamada Cobre e BK7

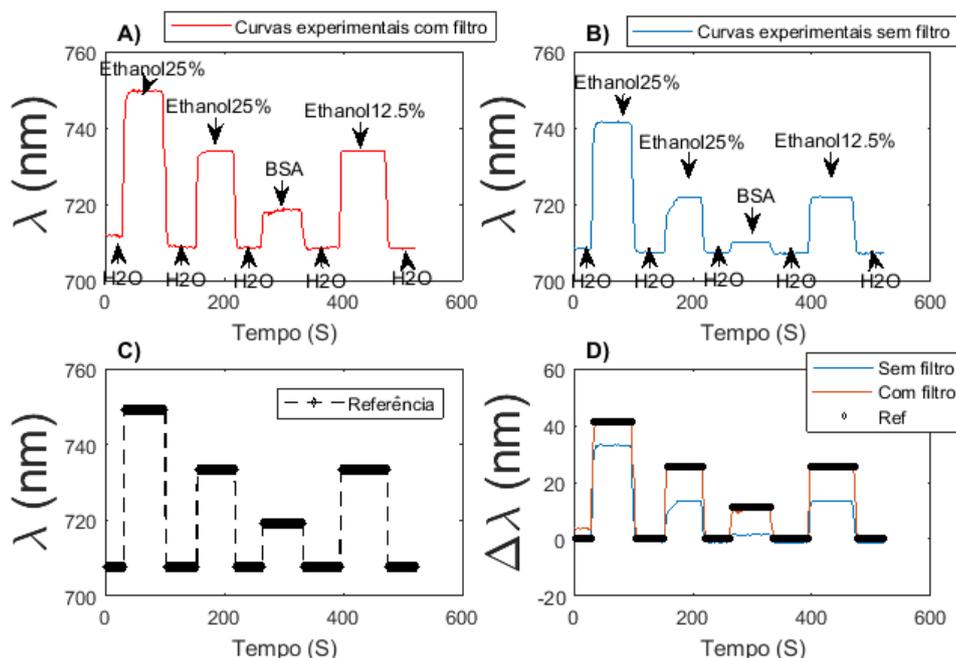


Tabela 33 – Comparativo entre o  $\lambda_R$  teórico ( $\lambda_{RT}$ ),  $\lambda_R$  experimental sem filtro ( $\lambda_{Rraw}$ ) e  $\lambda_R$  experimental com filtro ( $\lambda_{R-NNSF}$ ), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo WIM

Substância	$\lambda_{RT}$ (nm)	$\lambda_{Rraw}$ (nm)	$\lambda_{R-NNSF}$ (nm)
$H_2O$	707.8	707.4	708.9
BSA	719	709.9	714.9
ET 12.5%	733.5	721.6	733.7
ET 25%	749.3	741.4	749.3

semelhantes de larguras para mais de uma substância o que inviabiliza a sua utilização como aspecto de sensoriamento, com a aplicação do filtro percebe-se o valor delimitado de cada substância.

Tabela 34 – Comparativo entre largura teórica (LT), Largura experimental sem filtro ( $L_{raw}$ ) e largura experimental com filtro (L-NNSF), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo WIM

Substância	LT (nm)	$L_{raw}$ (nm)	L-NNSF (nm)
$H_2O$	79.22	71.9	79.58
BSA	83.74	71.38	83.54
ET12.5%	88.24	133	88.97
ET25%	91.7	133	93.73

Para a característica de assimetria percebe-se comportamento semelhante à largura, todavia para a assimetria a variação entre as substâncias tornam-se maiores, conforme Tabela 35.

Figura 70 – Sensorgrama de largura para o sistema multicamada Cobre e BK7 em modo WIM

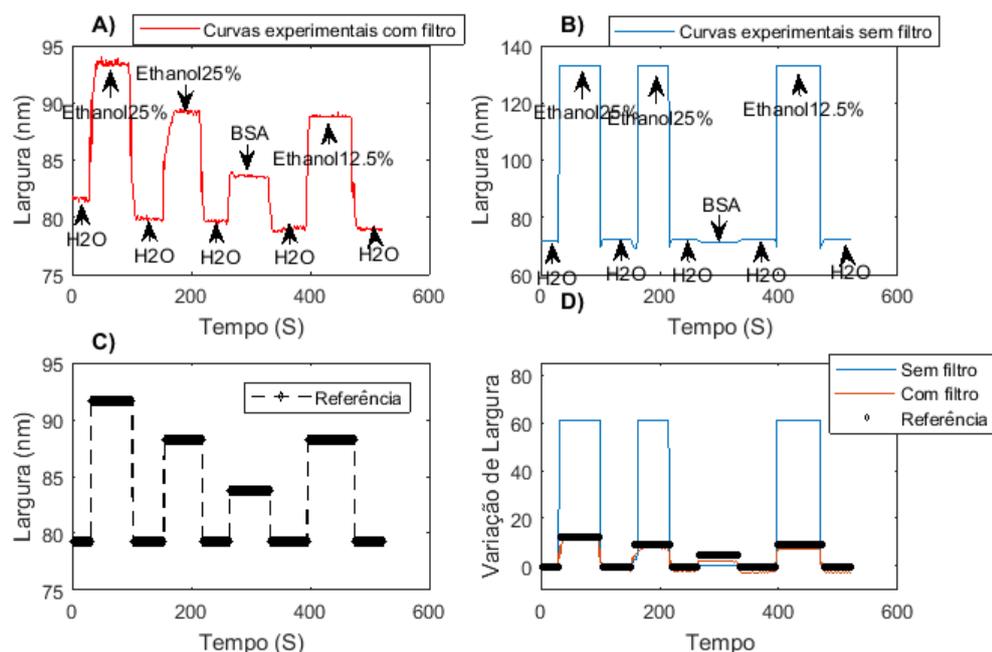
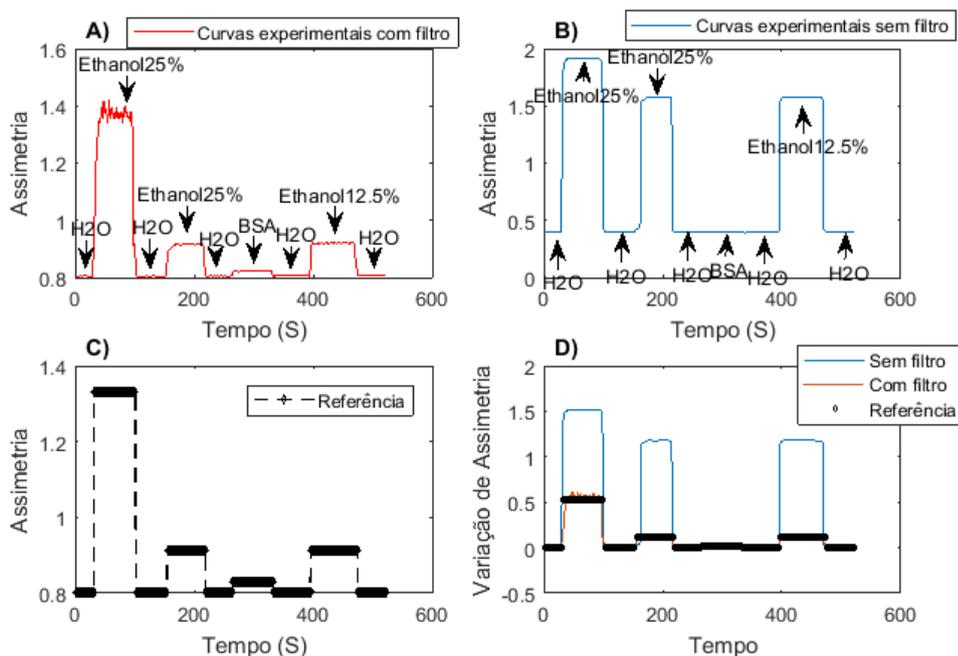


Figura 71 – Sensorgrama de assimetria para o sistema multicamada Cobre e BK7 em modo WIM



A variação de energia foi maior após a aplicação do filtro, todavia com a redução da largura foi possível cortar a curva em uma região menor, assim o nível de energia após o filtro apresenta menor valor. A Tabela 36 exhibe os valores de energia para cada substância.

O sensorgrama de fase para as curvas filtradas apresentou valores mais próximos ao teórico conforme Tabela 37. Para a multicamada em questão o filtro foi capaz de melhorar a resposta de modo geral.

Tabela 35 – Comparativo entre assimetria teórica (AT), assimetria experimental sem filtro ( $A_{raw}$ ) e assimetria experimental com filtro (A-NNSF), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo WIM

Substância	AT (nm)	$A_{raw}$ (nm)	A-NNSF (nm)
$H_2O$	0,803	0,393	0,8052
BSA	0,8282	0,4019	0,8244
ET12.5%	0,9132	1,576	0,9148
ET25%	1,332	1,913	1,378

Figura 72 – Sensorgrama de energia para o sistema multicamada Cobre e BK7 em modo WIM

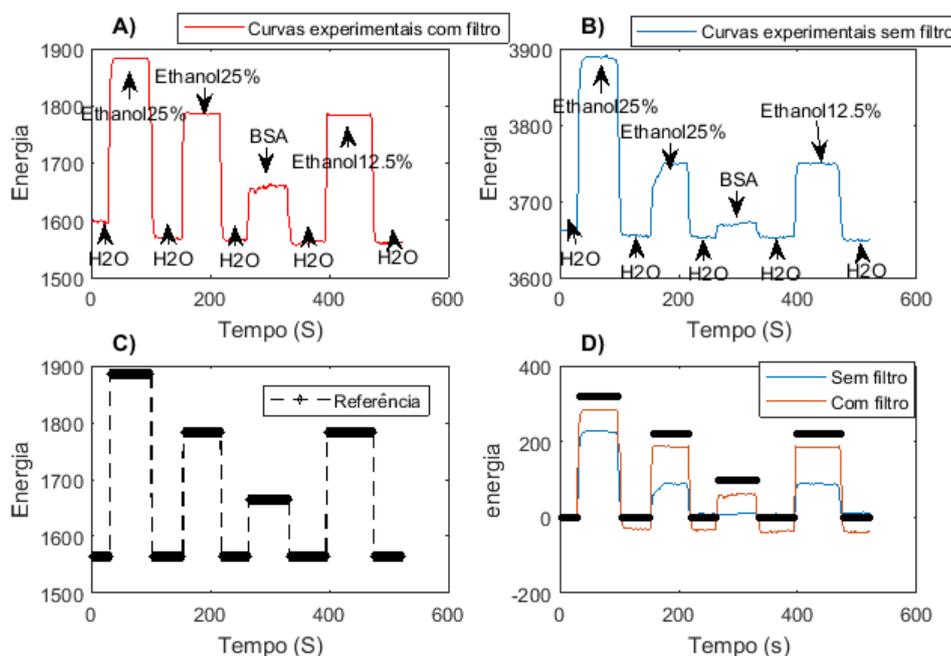


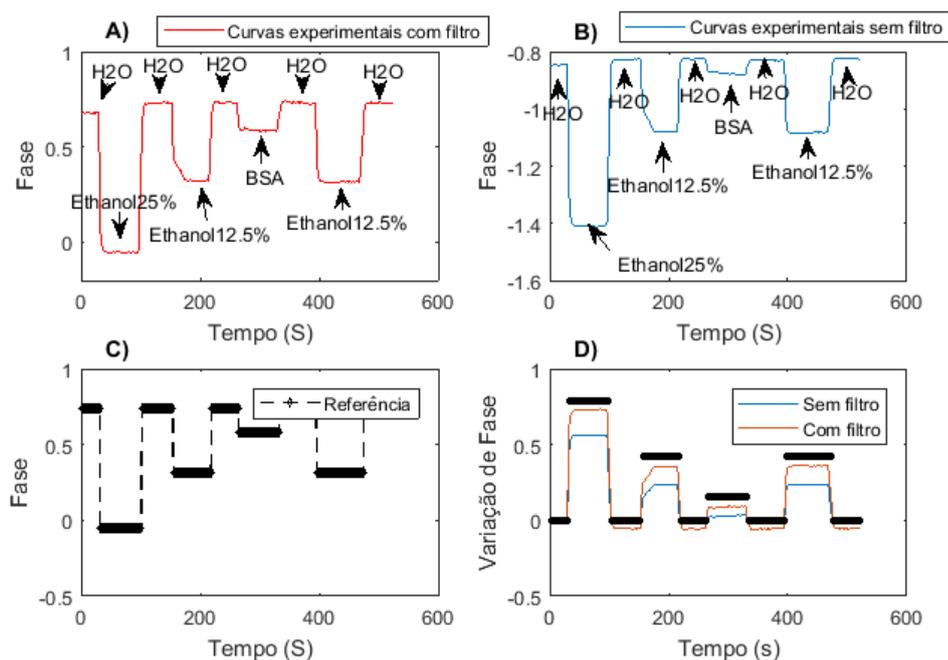
Tabela 36 – Comparativo entre energia teórica (ET), energia experimental sem filtro ( $E_{raw}$ ) e energia experimental com filtro (E-NNSF), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo WIM

Substância	ET	$E_{raw}$	E-NNSF
$H_2O$	1565	3655	1563
BSA	1664	3672	1657
ET12.5%	1784	3750	1783
ET25%	1885	3887	1883

#### 4.7 NNSF para Prata e BK7 Modo WIM

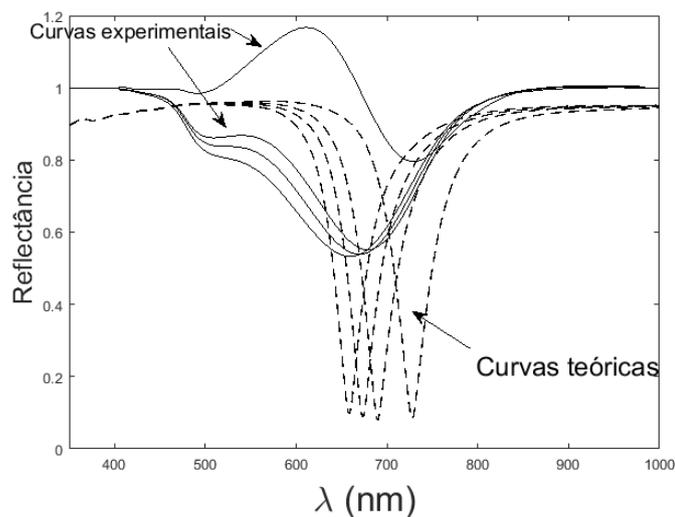
A estrutura multicamada é composta por um filme fino de prata com espessura de 50 nm, depositado sobre BK7. Para o modo WIM utilizou-se o protocolo experimental:  $H_2O \rightarrow$  Ethanol 25%  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  Ethanol 12,5%  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  BSA  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  Ethanol 12,5%  $\rightarrow H_2O$ , com o ângulo incidente de  $\theta = 68$ . Com a execução do protocolo experimental foram obtidas 1027 curvas SPR, em que as curvas representativas selecionadas estão contidas na Figura 74.

Figura 73 – Sensorgrama de fase para o sistema multicamada cobre e BK7 WIM

Tabela 37 – Comparativo entre fase teórica (FT), fase experimental sem filtro ( $F_{raw}$ ) e fase experimental com filtro (F-NNSF), para a multicamada composta por cobre e BK7 em modo WIM

Substância	FT (nm)	$F_{raw}$ (nm)	F-NNSF (nm)
$H_2O$	0,7342	0,8298	0,7239
PBS	0,5771	0,8758	0,5833
BSA	0,3161	1,078	0,3196
HIPO	0,0491	1,41	0,0556

Figura 74 – Curvas utilizadas para o treinamento da RNA, sistema multicamada Prata e BK7 em modo WIM



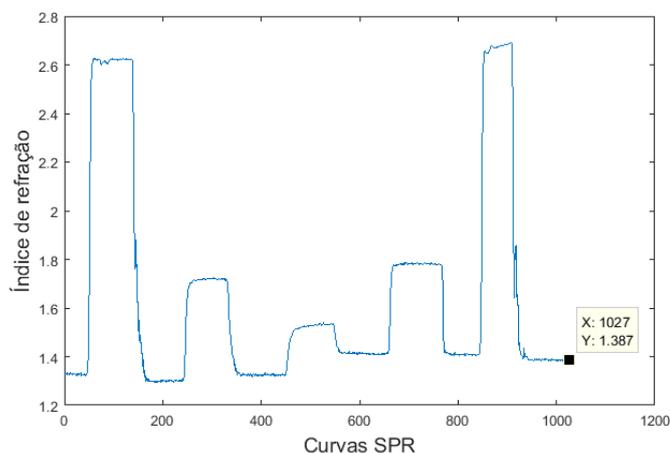
#### 4.7.1 Teste estático

Com base nas curvas de treinamento presentes na Figura 74, calcula-se a matriz de coeficientes de distorção contida em (4.7) que demonstra alta distorção entre as curvas correlatadas. Através da MCD observa-se que todas as linhas apresentam ao menos um coeficiente de distorção  $< 0,8$ .

$$MCD = \begin{matrix} & \begin{matrix} \mathbf{H_2O} & \mathbf{ET\ 12\%} & \mathbf{BSA} & \mathbf{ET\ 25\%} \end{matrix} \\ \begin{matrix} \mathbf{H_2O} \\ \mathbf{ET\ 12\%} \\ \mathbf{BSA} \\ \mathbf{ET\ 25\%} \end{matrix} & \begin{bmatrix} 1,0000 & 0,9590 & 0,9617 & \mathbf{0,7262} \\ 0,9590 & 1,0000 & 0,9972 & \mathbf{0,6964} \\ 0,9617 & 0,9972 & 1,0000 & \mathbf{0,6984} \\ \mathbf{0,7262} & \mathbf{0,6964} & \mathbf{0,6984} & 1,0000 \end{bmatrix} \end{matrix} \quad (4.7)$$

O nível de distorção elevado exige um alto custo computacional, se a RNA MLP [3:13:13:1] for aplicada para buscar o melhor modelo, será exigido um tempo de treinamento muito extenso, com alta variância. Para tanto recorre-se a utilização de comitê dinâmico formado por duas RNAs especialista. A primeira RNA foi treinada com as curvas SPR 182, 619, 495 e 262 tornando-se especialista nas curvas de  $H_2O$  e BSA. A segunda RNA foi treinada com as curvas SPR 262, 676, 90 e 874 tornando-se especialista nas curvas do Ethanol. Com base no índice de refração experimental de cada substância, o comitê julga qual deve ser a ponderação de cada RNA. O índice de refração ponderado é exibido na Figura 75.

Figura 75 – Índice de refração (N apresentado na Equação (3.5) ), utilizado como juiz do comitê dinâmico. Por meio do índice de refração também é possível dividir o espaço de amostragem em regiões, sendo um critério para seleção de curvas representativas



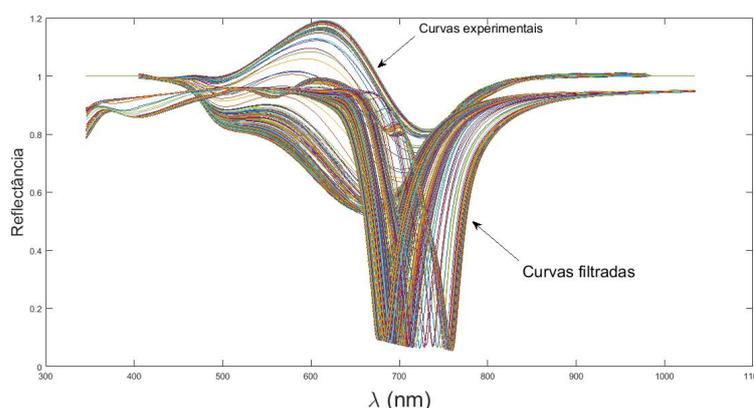
Para o teste do treinamento do especialista 1 utilizou-se a curva SPR 503, verificando-

se um EMQ na ordem de  $10^{-5}$  e um ICMT de 0,93. Para o teste de treinamento do especialista 2 utilizou-se a curva SPR 115, verificando-se um EMQ na ordem de  $10^{-5}$  e um ICMT de 0,95. Os resultados estáticos embasam a continuidade por meio dos testes dinâmicos.

#### 4.7.2 Teste dinâmico

As curvas experimentais filtradas estão contidas na Figura 76, aplicando-se o filtro para a estrutura multicamada constituída por Prata e BK7 obteve-se melhor disposição dos comprimentos de onda de ressonância para cada curva com base na região de  $650 < \lambda < 800$ . O sensorgrama de comprimento de onda de ressonância contido na Figura 77, demonstram

Figura 76 – Comportamento do filtro para o arranjo multicamada constituído por Prata e BK7 em modo WIM

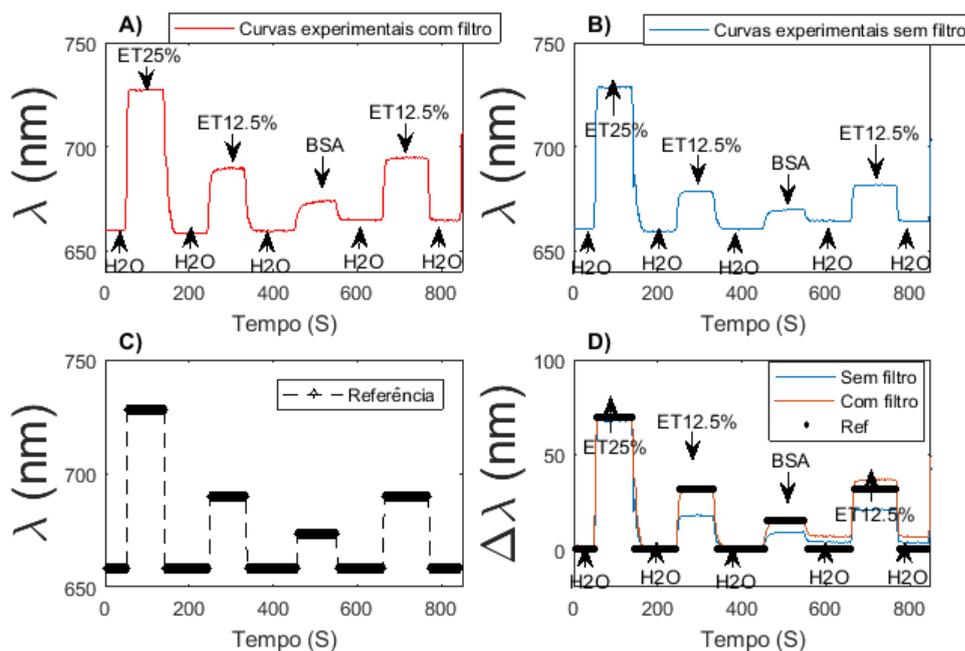


equivalência entre as respostas do sensor com e sem filtro. Todavia, a curva filtrada apresenta profundidade/contraste mais acentuados favorecendo a detecção da posição de ressonância. Para o etanol 12.5%, com  $\Delta IR = 3.59 \times 10^{-3} RIU$ , o sensor entregou o valor de  $\Delta RR = 18nm$  sem o filtro e  $\Delta \lambda_R = 32nm$  com o NNSF-comitê. Esses valores correspondem a Sensibilidade ( $S_\lambda = 5333,01nm/RIU$  e de  $5783,1 nm/RIU$  respectivamente, um aumento de 8,5%.

Tabela 38 – Comparativo entre o  $\lambda_R$  teórico ( $\lambda_{RT}$ ),  $\lambda_R$  experimental sem filtro ( $\lambda_{Rraw}$ ) e  $\lambda_R$  experimental com filtro ( $\lambda_{R-NNSF}$ ), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo WIM

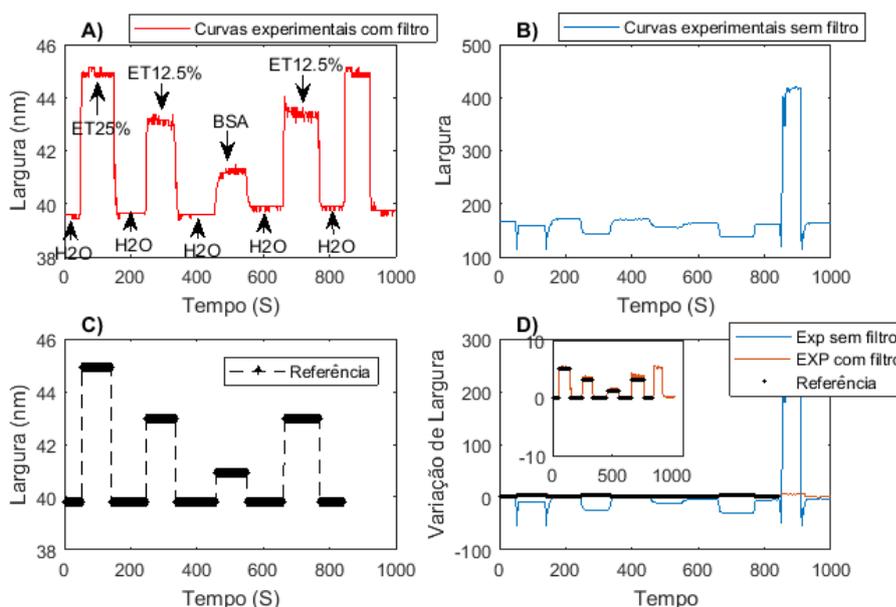
Substância	$\lambda_{RT}$ (nm)	$\lambda_{Rraw}$ (nm)	$\lambda_{R-NNSF}$ (nm)
$H_2O$	658.3	660.4	658.1
BSA	673.4	669.6	672.6
ET 12.5%	689.8	668.2	689
ET 25%	727.7	728.1	727.3

Figura 77 – Sensorgrama de comprimento de onda de ressonância para o sistema multicamada Prata e BK7 em modo WIM



A largura das curvas experimentais apresentam discrepância para a substância etanol 25%, esta discrepância foi solucionada com a aplicação do filtro, todavia a variação com base no nível de referência foi menor após a aplicação, conforme mostra a Tabela 39 e Figura 78.

Figura 78 – Sensorgrama de largura para o sistema multicamada Prata e BK7 em modo WIM



A assimetria foi melhorada com a aplicação do filtro, após 800 segundos as curvas experimentais tornaram-se ruidosas, com a aplicação do filtro este problema foi solucionado, conforme Tabela 40 e Figura 79.

Tabela 39 – Comparativo entre largura teórica (LT), Largura experimental sem filtro ( $L_{raw}$ ) e largura experimental com filtro (L-NNSF), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo WIM

Substância	LT (nm)	$L_{raw}$ (nm)	L-NNSF (nm)
$H_2O$	39.82	170.4	39.61
BSA	40.94	155.4	41.32
ET12.5%	42.96	143.5	43.45
ET25%	44.94	114.6	44.95

Figura 79 – Sensorgrama de assimetria para o sistema multicamada Prata e BK7

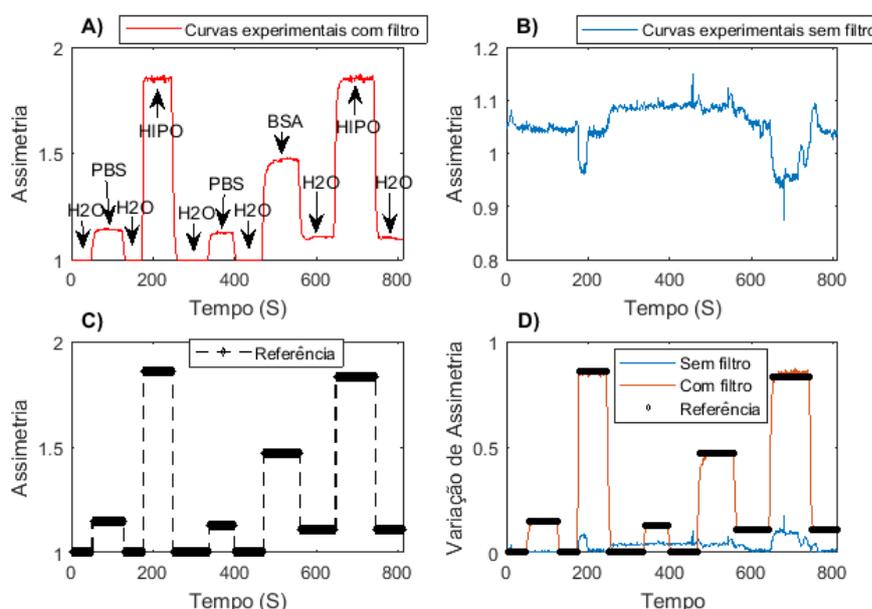


Tabela 40 – Comparativo entre assimetria teórica (AT), assimetria experimental sem filtro ( $A_{raw}$ ) e assimetria experimental com filtro (A-NNSF), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo WIM

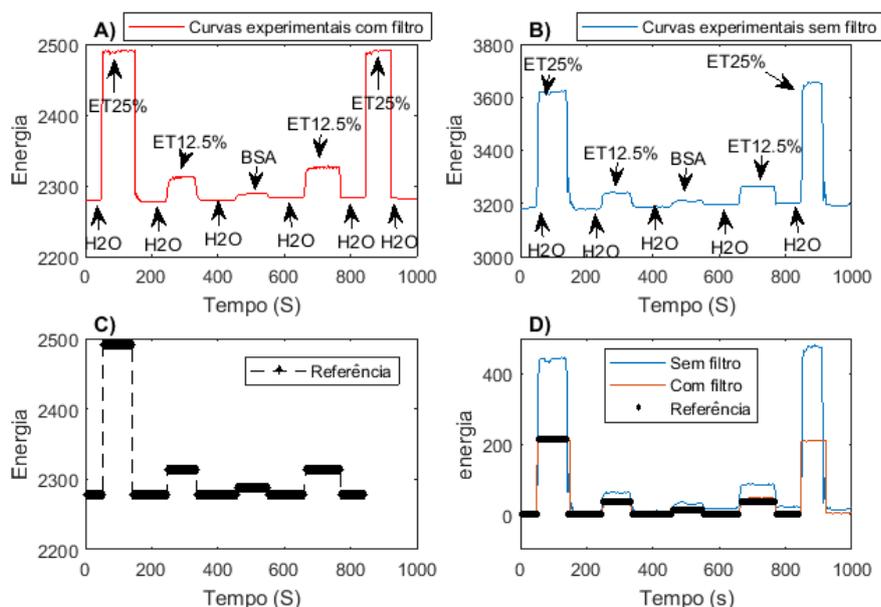
Substância	AT (nm)	$A_{raw}$ (nm)	A-NNSF (nm)
$H_2O$	0,7	1,28	0,7
BSA	0,7572	1,247	0,7567
ET12.5%	0,79921	1,201	0,8002
ET25%	0,8837	0,5118	0,8806

A energia e fase são exibidas nas Figuras 80 e 81. Os sensorgramas de energia e fase desempenharam resposta com nível de ruído semelhante às curvas experimentais, todavia a Tabela 41 e a Tabela 42 demonstram uma maior variação com o NNSF.

#### 4.8 Filtro para multicamada de Prata e BK7 em modo AIM

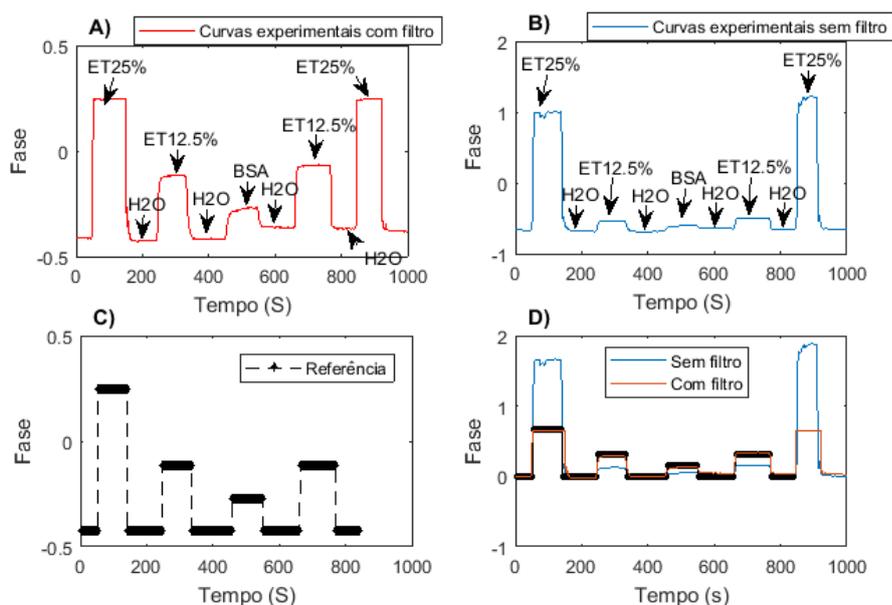
A estrutura multicamada é composta por um filme fino de prata com espessura de 50 nm, depositado sobre BK7. Para o modo AIM utilizou-se o protocolo experimental:  $H_2O \rightarrow$

Figura 80 – Sensorgrama de energia para o sistema multicamada Prata e BK7 em modo WIM

Tabela 41 – Comparativo entre energia teórica (ET), energia experimental sem filtro ( $E_{raw}$ ) e energia experimental com filtro (E-NNSF), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo WIM

Substância	ET	$E_{raw}$	E-NNSF
$H_2O$	2278	3188	2283
BSA	2288	3207	2288
ET12.5%	2313	3264	2326
ET25%	2490	3623	2491

Figura 81 – Sensorgrama de fase para o sistema multicamada Prata e BK7 WIM



Hipoclorito  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  PBS  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  BSA  $\rightarrow H_2O \rightarrow$  Hipoclorito  $\rightarrow H_2O$ . O comprimento de onda incidente foi de  $\lambda = 658$  nm.

Tabela 42 – Comparativo entre fase teórica (FT), fase experimental sem filtro (*Fraw*) e fase experimental com filtro (F-NNSF), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo WIM

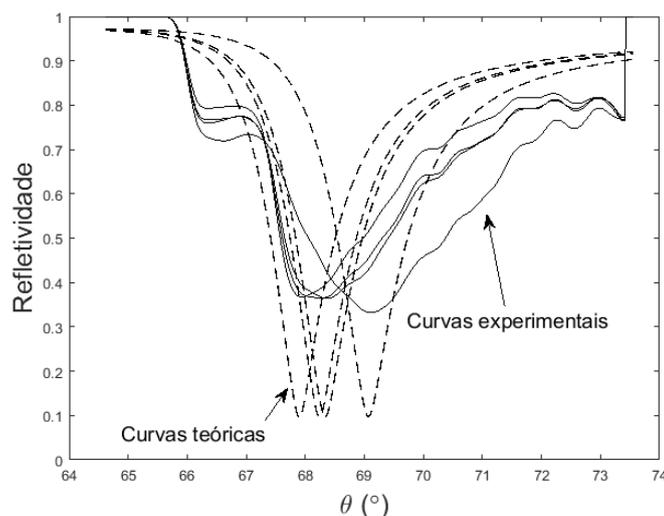
Substância	FT (nm)	<i>Fraw</i> (nm)	F-NNSF (nm)
$H_2O$	-0,4262	-0,6727	-0,4173
PBS	-0,2758	-0,6018	-0,286
BSA	-0,1148	-0,5029	-0,1143
HIPO	0,2479	0,9857	0,2469

#### 4.8.1 Teste estático

Para o cálculo da MCD selecionou-se uma curva representativa de cada região, as curvas selecionadas são exibidas na Figura 82. A MCD calculada em (4.8) demonstra alta distorção entre as curvas. Para tanto, recorre-se a utilização de comitê dinâmico formado por duas RNAs especialista.

$$MCD = \begin{array}{c|ccccc} & \mathbf{H_2O} & \mathbf{ET\ BSA} & \mathbf{ET\ 12\%} & \mathbf{ET\ 25\%} \\ \hline \mathbf{H_2O} & 1,0000 & 0,9816 & 0,9680 & \mathbf{0,7386} \\ \mathbf{ET\ BSA} & 0,9816 & 1,0000 & 0,9861 & \mathbf{0,7525} \\ \mathbf{ET\ 12\%} & 0,9680 & 0,9861 & 1,0000 & \mathbf{0,7630} \\ \mathbf{ET\ 25\%} & \mathbf{0,7386} & \mathbf{0,7525} & \mathbf{0,7630} & 1,0000 \end{array} \quad (4.8)$$

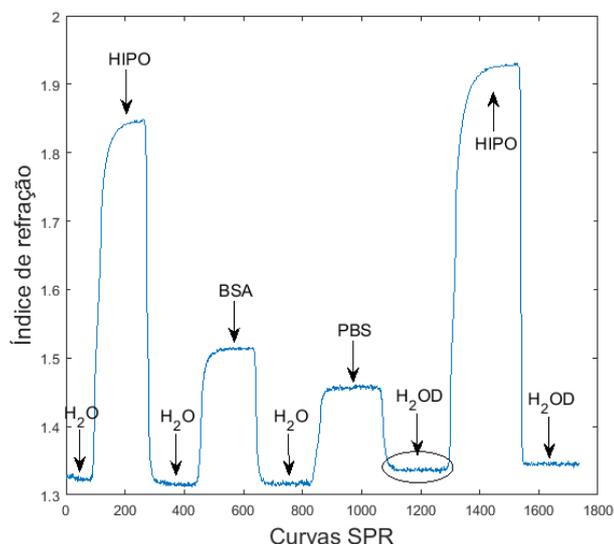
Figura 82 – Curvas utilizadas para o treinamento da RNA, sistema multicamada Prata e BK7 em modo AIM



A primeira RNA foi treinada com as curvas SPR 380, 1216, 939 e 1028 tornando-se especialista nas curvas de  $H_2O$  e PBS. A segunda RNA foi treinada com as curvas SPR 504, 562,

201 e 1447 tornando-se especialista nas curvas do Ethanol. Para selecionar a ponderação de cada especialista utilizou-se o índice de refração contido na Figura 83.

Figura 83 – Índice de refração ponderado, para a multicamada Ag/Bk7 AIM. Ênfase para o ponto onde ocorre dissociação ( $H_2OD$ )



Para o teste do especialista 1 utilizou-se a curva SPR 928, verificando-se um EMQ na ordem de  $10^{-5}$  e um ICMT de 0,92. Para o teste de treinamento do especialista 2 utilizou-se a curva SPR 198, verificando-se um EMQ na ordem de  $10^{-5}$  e um ICMT de 0,94. Os resultados estáticos embasam a continuidade por meio dos testes dinâmicos.

#### 4.8.2 Teste dinâmico

As curvas experimentais filtradas estão contidas na Figura 84. Com a aplicação do NNSF a curva foi remodelada, apresentando correções críticas nas regiões de  $66,17^\circ < \theta < 67,29^\circ$  e  $72^\circ < \theta < 74^\circ$ . As melhorias obtidas com o NNSF podem ser observadas em cada sensorgrama. Os resultados dinâmicos são observados nos sensorgramas de comprimento de onda de ressonância (Figura 85, largura (Figura: 86), assimetria (Figura: 87), energia (Figura 88) e fase (Figura: 89).

Com a aplicação do filtro obteve-se um  $\theta_r$  semelhante ao sensorgrama sem filtro, comprovando que o filtro não degradou a cinética das interações biológicas. A região da água após dissociação ( $H_2OD$ ) foi suavemente melhorada conforme a 43.

As curvas SPR tiveram suas larguras reduzidas. uma melhor delimitação para a água pode ser observada através da Figura 86. um pequeno ruído é observado na região de fronteira

Figura 84 – Comportamento do filtro para a multicamada Ag/Bk7 AIM. A) Curvas experimentais filtradas e B) Curvas experimentais sem filtro

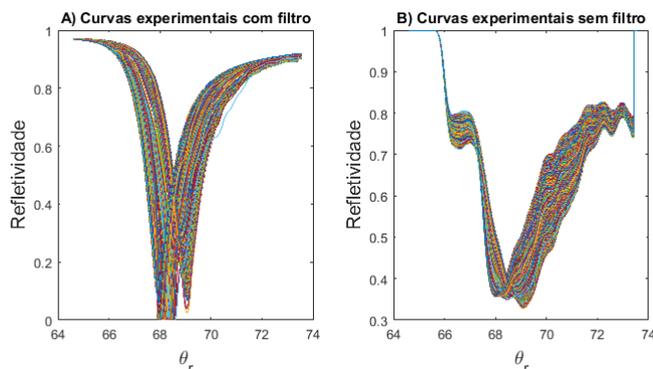


Figura 85 – Sensorgrama de comprimento de onda de ressonância para a multicamada Ag/Bk7 AIM

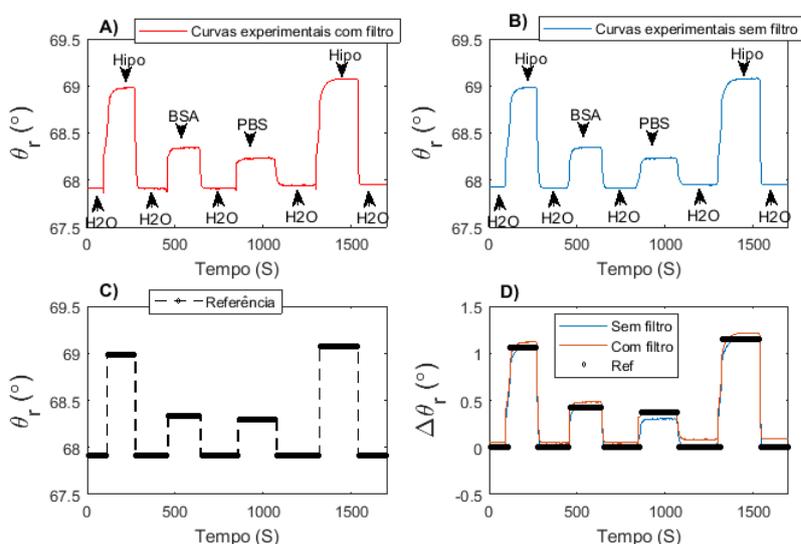


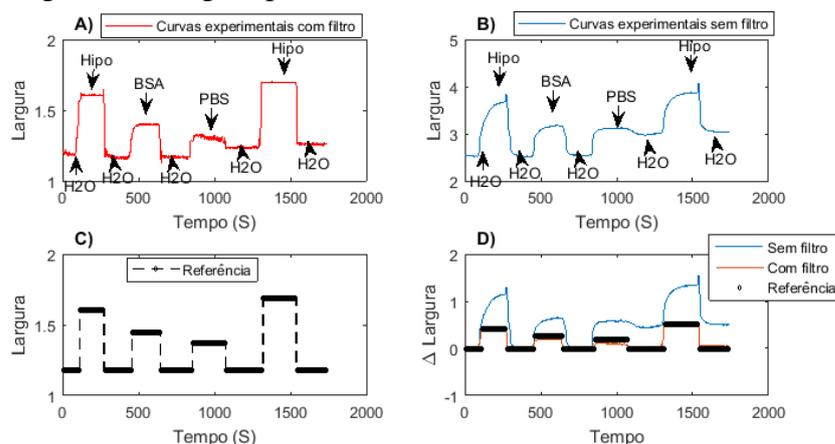
Tabela 43 – Comparativo entre o  $\theta_R$  teórico ( $\theta_{RT}$ ),  $\theta_R$  experimental sem filtro ( $\theta_{Rraw}$ ) e  $\theta_R$  experimental com filtro ( $\theta_{R-NNSF}$ ), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo AIM

Substância	$\theta_{RT}$ (°)	$\theta_{Rraw}$ (°)	$\theta_{R-NNSF}$ (°)
$H_2O$	67.92	67.92	67.89
$H_2OD$	67.92	67.94	67.96
PBS	68.29	68.24	68.3
BSA	68.34	68.34	68.34
HIPO	68.98	68.98	68.98

entre os dois especialistas. A Tabela 44 exibe os valores de largura para cada substância.

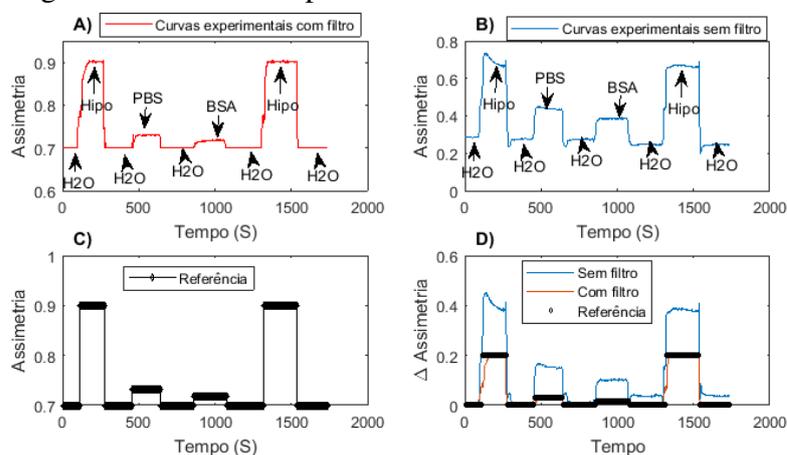
Com a utilização do filtro a assimetria é substancialmente melhorada, uma vez que deformações na região de água e hipoclorito foram corrigidas, assim como no sensorgrama de largura, observa-se uma pequena oscilação nas regiões de transição entre uma substância e outra, devido a comitê dinâmico. Os valores permanentes são vistos na Tabela 45.

Figura 86 – Sensorgrama de largura para o sistema multicamada Prata e BK7 em modo AIM

Tabela 44 – Comparativo entre largura teórica (LT), Largura experimental sem filtro ( $L_{raw}$ ) e largura experimental com filtro (L-NNSF), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo AIM

Substância	LT (nm)	$L_{raw}$ (nm)	L-NNSF (nm)
$H_2O$	1,179	2.52	1,199
$H_2OD$	1,179	2.989	1,291
PBS	1,368	3.108	1,304
BSA	1,445	3.15	1,402
HIPO	1,60	3.661	1,605

Figura 87 – Sensorgrama de assimetria para o sistema multicamada Prata e BK7



Para a presente configuração multicamada, o valor de energia decai em relação a substância de referência, este fato é observado em curvas experimentais sem filtro, com filtro e nas curvas teóricas, após a aplicação do filtro não obteve-se sucesso na região de Hipoclorito, a amplitude para hipoclorito no tempo de 250 segundos foi de aproximadamente 900 e para o tempo de 1500 segundos foi de 850, os valores permanentes podem ser observados na Tabela 46.

A variação de fase obtida com a aplicação do filtro por meio do comitê dinâmico foi maior que a variação de fase das curvas experimentais sem filtro, o valor de fase para a água

Tabela 45 – Comparativo entre assimetria teórica (AT), assimetria experimental sem filtro ( $A_{raw}$ ) e assimetria experimental com filtro (A-NNSF), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo AIM

Substância	AT (nm)	$A_{raw}$ (nm)	A-NNSF (nm)
$H_2O$	0,7	0,2493	0,7
PBS	0,7186	0,3832	0,719
BSA	0,7315	0,4353	0,7318
HIPO	0,9	0,6718	0,9019

Figura 88 – Sensorgrama de energia para o sistema multicamada Prata e BK7 em modo AIM

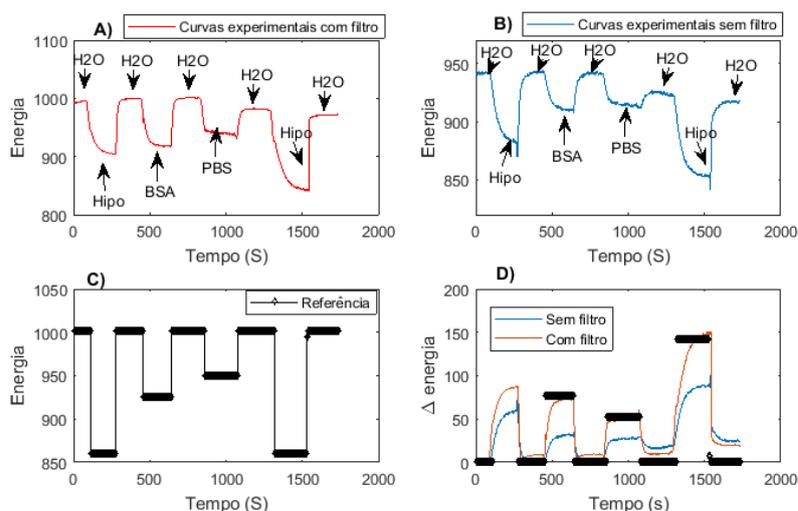


Tabela 46 – Comparativo entre energia teórica (ET), energia experimental sem filtro ( $E_{raw}$ ) e energia experimental com filtro (E-NNSF), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo AIM

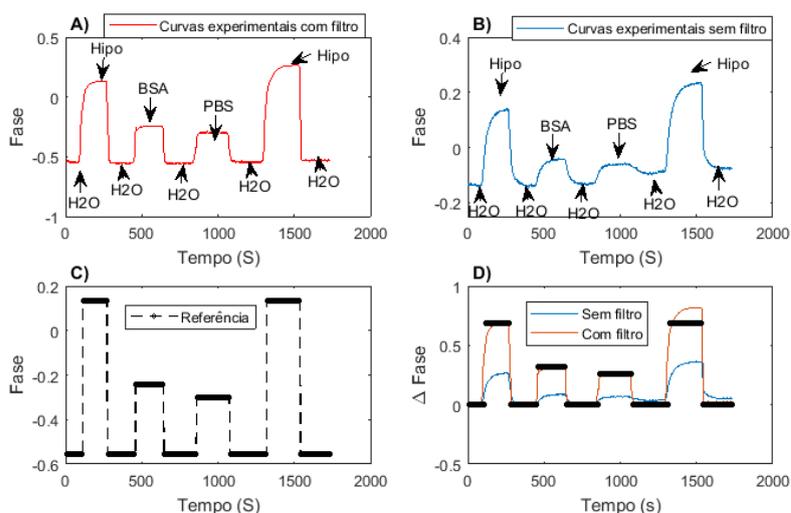
Substância	ET	$E_{raw}$	E-NNSF
$H_2O$	1002	940.7	1001
PBS	950	914.2	937.1
BSA	925	909.5	918.3
HIPO	860	885.9	847.1

manteve-se constante ao passo que o valor de fase para as curvas sem filtros assumem valores diferentes ao longo do tempo.

#### 4.9 Resumo

A Tabela 48 exibe de forma resumida o desempenho do sensor com base na sensibilidade apresentada com o uso do NNSF e para os dados teóricos. Observa-se semelhança entre a sensibilidade teórica e a sensibilidade obtida com o NNSF, uma vez que os dados teóricos são utilizados como professor do NNSF. Os valores de sensibilidade para o filme metálico de

Figura 89 – Sensorgrama de fase para o sistema multicamada Prata e BK7 AIM

Tabela 47 – Comparativo entre fase teórica (FT), fase experimental sem filtro ( $F_{raw}$ ) e fase experimental com filtro (F-NNSF), para a multicamada composta por prata e BK7 em modo WIM

Substância	FT (nm)	$F_{raw}$ (nm)	F-NNSF (nm)
$H_2O$	0,5552	0,1409	0,5521
PBS	0,2981	0,0578	0,304
BSA	0,2402	0,0485	0,2438
HIPO	0,1316	0,1301	0,1249

alumínio em configuração WIM apresentam uma pequena discrepância devido à cinéticas das reações e ruídos particulares.

Tabela 48 – Comparação do desempenho por meio da sensibilidade para os dados teóricos e com NNSF.

	$S_{AIM}$ ( $^{\circ}/RIU$ )		$S_{WIM}$ (nm/RIU)	
	Teoria	NNSF	Teoria	NNSF
Ouro	129,17	128,28	5,323,33	3251,3
Prata	131,83	120,83	5.800,00	5.783,1
Cobre	127,83	127,71	5.631,67	5.988,20
Alum	148,83	144,43	5.838,33	5.744,8

#### 4.10 Comparação Entre Filtro linear e NNSF

Um filtro linear (FL) foi desenvolvido aplicando-se uma transformação linear que leva os pontos contidos no espaço da curva experimental ( $\xi$ ) para um espaço aproximado ao da curva teórica ( $\Upsilon$ ), da forma  $LF(\xi) = M \times \Upsilon$ , em que  $M = \xi \times \Upsilon^{-1}$ . A Figura 90a exibe as

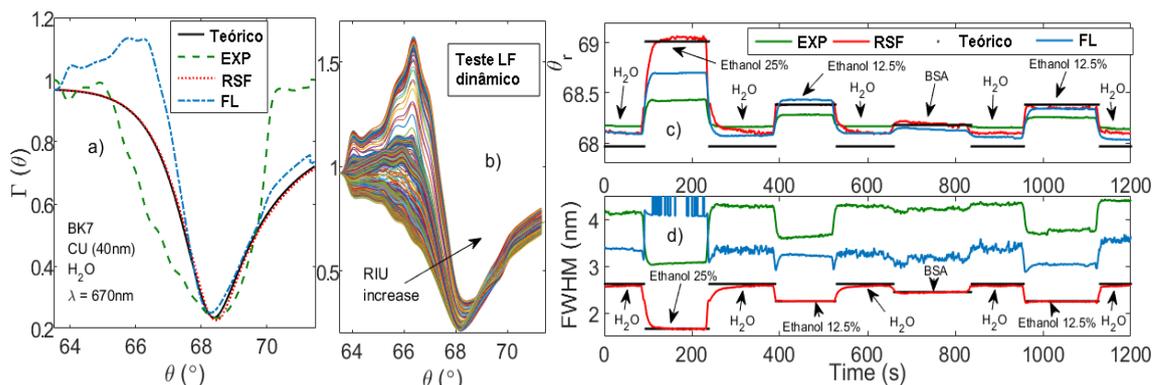


Figura 90 – a) Comparação entre métodos de filtragem, b) Curvas SPR para todas as substâncias durante o procedimento experimental. Sensorgramas representativos de c)  $\Delta\theta_R$  and d) largura extraídos com a variação do tempo. As setas indicam a substância de cada regime permanente

curvas SPR obtidas com os filtros LF e NNSF para o sensor operando no modo AIM. Com a aplicação da transformação linear, a curva experimental é remodelada, por meio de expansões, compressões, cisalhamento horizontal e vertical e translações.

O teste dinâmico para o filtro LF (Figura 90b) registrou curvas de saída com distorção na região entre  $65^\circ$  e  $67.3^\circ$ . O sensorgrama para  $\theta_R$ , revela um valor de  $\Delta\theta_R = 0,70^\circ$  com o FL na transição H<sub>2</sub>O→Ethanol 25%, acarretando um valor de  $S_\theta = 116.67^\circ/\text{RIU}$ , 17% maior em comparação aos dados sem filtro. A comparação entre os filtro é sumarizada na 49.

Tabela 49 – Performance do NNSF vs FL

	Raw	NNSF	FL
$S_\theta^\circ/\text{RIU}$	96.76	163.33	116.67
$S_\lambda \text{nm}/\text{RIU}$	5,013.9	8,913.65	-

Os valores estatísticos de desempenho, estão reunidos na Tabela 50. Ambos os filtros demonstram ICMV maior que 0,96, denotando validação do projeto dos filtros. Todavia, o LF apresenta valor ICMT abaixo de 0,9, devido ao viés inerente a linearidade da transformação. O LF obteve EMQ na ordem de  $10^{-4}$ , duas ordens de grandeza menor do que o NNSF, com EMQ na ordem de  $10^{-6}$ .

Tabela 50 – Comparativo entre os dados estatísticos para o LF e o NNSF

Tipo	EMQ	ICMV	ICMT
NNSF	$10^{-6}$	0,98	0,92
Filtro linear	$2,3340 \times 10^{-4}$	0,9617	0,8588

## 5 CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS

Uma metodologia para remoção de ruídos da resposta de sensores SPR foi apresentada. O filtro inteligente remove os ruídos intrínsecos a instrumentação utilizada, corrigindo as características da curva SPR. Denominado de NNSF, o filtro computa a distorção das curvas experimentais em relação a base de dados teórica, a partir da qual faz com que o filtro assuma uma estrutura ou não de comitê de classificadores.

O NNSF pode ser entendido como um método heurístico não linear de aproximação de funções, por meio da remoção de sinais de amplitude e frequência específicos (ruídos) o NNSF promove a aproximação das curvas experimentais às curvas teóricas, sem degradar ou interferir na cinética das interações biomoleculares. Por meio da metodologia MCD desenvolvida, torna-se possível mensurar o nível de distorção entre as curvas SPR. Perante um alto nível de distorção, uma máquina de comitê é acionada, mantendo baixo viés e reduzindo a variância amostral.

Com a aplicação do NNSF foram obtidas curvas filtradas que apresentam um EMQ máximo em relação às curvas teóricas de  $10^{-5}$  com  $ICMT > 0,90$  e  $ICMV > 0,98$ . As curvas apresentaram melhorias significativas de contraste/profundidade, largura e assimetria, energia e fase demonstrando que o filtro corrige o problemas generalista. A melhoria dos parâmetro da curva SPR foi atestada por meio de testes dinâmicos. Com a aplicação dos testes dinâmicos observou-se uma melhoria de sensibilidade entre 2,5% e 71,5%.

Em comparação com o filtro linear, o NNSF demonstra resposta com um menor viés, de modo a manter visível a cinética das reações, demonstrando melhor caracterização nos regimes permanentes para todas as substâncias. Com o filtro linear obtém-se um EMQ na ordem de  $10^{-4}$  já com a aplicação do NNSF obtém-se um EMQ na ordem de  $10^{-6}$ . Observa-se que o método heurístico utilizado no NNSF torna-se mais eficiente do que métodos de filtragem linear por considerar além dos parâmetros da curva SPR o índice de refração equivalente a cada curva.

O NNSF dispensa a utilização de componentes eletrônicos específicos para filtragem como em (Pang *et al.*, 2015), sem necessidades de alterações na estrutura física do sensor como (HOMOLA, 2006; Wang *et al.*, 2011). A utilização do filtro acarreta maior sensibilidade ao sensor, sendo uma alternativa para a redução de custos com manufatura, uma vez que contorna a necessidade de investir em técnicas caras de controle, filmes altamente polidos e equipamentos de custo elevado. reduzindo custos de instrumentação e manutenção. Além do mais, atua de forma eficiente sem provocar a dissipação de energia em forma de temperatura como no trabalho de (Berger; Greve, 2000).

Devido a utilização de redes neurais o filtro pode se adaptar a diferentes tipos de ruídos e diferentes configurações de sensores SPR, portanto, um método generalista para filtragem de ruídos que afetam sensores SPR foi desenvolvido.

Para continuidade da pesquisa, torna-se factível abordar em trabalhos futuros, a aplicação do NNSF para outros tipos de sensores SPR e diferentes configurações multicamadas, bem como a utilização de comitês com mais especialistas e diversificação na tipologia dos mesmos. Metodologias de otimização não linear podem ser avaliadas para a melhoria no tempo de treinamento, tais como método do gradiente conjugado, Fletcher-Reeves, Polak-Ribière, gradiente conjugado escalonado de MOLLER, Levenberg-Marquardt e Broyden-Fletcher-Goldfarb-Shanno.

## REFERÊNCIAS

- ABELÈS, F. La theorie generale des couches minces. **Phys. Radium**, v. 11, p. 307–309, 1950.
- Berger, C. E. H.; Greve, J. Differential surface plasmon resonance immunosensing. **Sens. Actuators B Chem**, v. 63, p. 103 – 108, 2000.
- BIERI, C.; ERNST, O.; HEYSE, S.; HOFMANN, K.; VOGEL, H. Micropatterned immobilization of a g protein–coupled receptor and direct detection of g protein activation. **Nat. Biotechnol**, v. 17, p. 1105–1108, 1999.
- David, C.; RESEARCH, G. global. **ADAPTIVE LINEAR FILTER FOR REAL TIME NOISE REDUCTION IN SURFACE PLASMON RESONANCE SYSTEMS**. 2011. 1 - 26 p.
- FANO, U. The theory of anomalous diffraction gratings and of quasi-stationary waves on metallic surfaces. **Proceedings of the Physical Society**, v. 31, p. 213–222, 1941.
- FERREIRA, E.; OLIVEIRA, L.; GOULART, L.; AL.. et. Leishmania spp. detection using a surface plasmon resonance biosensor. **Proceedings**, v. 1, p. 53, 2017.
- FILHO, C. **Contribuição ao Projeto de Sistemas Multianalíticos Baseados em Ressonância de Plasmons de Superfícies**. Tese (Tese de Doutorado) — Universidade Federal de Campina Grande, 2017.
- HAYKIN, S. **Redes Neurais: Princípios e prática**. São Paulo: Bookman, 2001.
- HOMOLA, J. **Surface Plasmon Resonance Based Sensors**. Berlin: Springer Berlin Heidelberg., 2006.
- KRETSCHMANN, E.; RAETHER, H. Radiative decay of non radiative surface plasmons excited by light. **Zeitschrift für Naturforschung A**, v. 23, p. 2135–2136, 1968.
- Kuo, W.-K.; Lin, W.-S.; Yang, S.-W. Thin-film tunable bandpass filter for spectral shift detection in surface plasmon resonance sensors. **Measurement Science and Technology**, v. 45, p. 65 – 68, 2020.
- LENSSSEN, J. E.; TOMA, A.; SEEBOLD, A.; SHPACOVITCH, V.; LIBUSCHEWSKI, P.; WEICHERT, F.; CHEN, J.-J.; HERGENRODER, R. Real-time low snr signal processing for nanoparticle analysis with deep neural networks. v. 4, p. 36–47, 2018.
- Lima, A.; Neff, F.; Moreira, C.; Herbster, A.; Oliveira, L. Surface plasmon resonance sensing characteristics of thin aluminum films in aqueous solution. **IEEE sensors journal**, v. 17, p. 6258 – 6267, 2017.
- LIU, Y.; LIU, Q.; CHEN, S.; CHENG, F.; WANG, H.; PENG, W. Surface plasmon resonance biosensor based on smart phone platforms. **Sci. Rep.**, v. 5, p. 12864, 2015.
- MOL, N. J.; FISCHER, M. J. E. **Surface Plasmon Resonance: Methods and protocols**. New York: Humana Press, 2010.
- Moreira, C.; Neto, A.; Lima, A.; Thirstrup, C.; Neff, H. Exchangeable low cost polymer biosensor chip for surface plasmon resonance spectroscopy. **Procedia Chemistry**, v. 1, p. 1479–1482, 2009.

- Neff, H.; Oliveira, L.; Rodrigues, E.; Thirstrup, C.; Lima, A. Enhanced directed radiative surface plasmon emission from periodically corrugated noble metal films. **Plasmonics**, v. 1, p. 1–8, 2018.
- NENNINGER, G. G.; PILIARIK, M.; HOMOLA, J. Data analysis for optical sensors based on spectroscopy of surface plasmons. **Measurement Science and Technology**, v. 13, p. 2038–2046, 2002.
- Nenninger, G. G.; Piliarik, M.; Homola, J. Data analysis for optical sensors based on spectroscopy of surface plasmons. **Meas. Sci. Technol.**, v. 13, p. 2038 – 2046, 2002.
- OLIVEIRA, L.; LIMA, A.; THIRSTRUP, C.; NEFF, H. Surface plasmon resonance sensors - a materials guide to design and optimization. Springer, 2015.
- OLIVEIRA, L.; MORERIRA, C.; THIRSTRUP, C.; MELCHER, E.; LIMA, A.; NEFF, H. A surface plasmon resonance biochip that operates both in the angular and wavelength interrogation modes. **IEEE TIM**, v. 62, n. 5, p. 1223–1232, 2013. ISSN 0018-9456.
- OLIVEIRA, L. C. **Construção e caracterização de sensores SPR: influência da camada meálica e do substrato dielétrico**. Tese (Tese de Doutorado) — Universidade Federal de Campina Grande, 2016.
- OLIVEIRA, L. C.; LIMA, A. M. N.; THIRSTRUP, C.; NEFF, H. F. **Surface Plasmon Resonance Sensors: A materials guide to design, characterization, optimization, and usage**. [S.l.]: Springer Series in Surface Sciences, 2019.
- OTTO, A. Excitation of nonradiative surface plasma waves in silver by the method of frustrated total reflection. **Zeitschrift für Physik A Hadrons and nuclei**, v. 216, p. 398–410, 1968.
- Pang, K.; Dong, W.; Zhang, B.; Zhan, S.; Wang, X. Sensitivity-enhanced and noise-reduced surface plasmon resonance sensing with microwell chips. **Measurement Science and Technology**, v. 26, p. 1 – 8, 2015.
- Patskovsky, S.; Meunier, M.; Prasad, P. N.; Kabashin, A. V. Self-noise-filtering phase-sensitive surface plasmon resonance biosensing. **OPTICS EXPRESS**, v. 18, p. 14355–14358, 2010.
- Pereira, E. G.; Oliveira, L. C.; Morais, M. R. A.; Lima, A. M. N.; Neff, H. Improved data extraction algorithm for biosensors utilizing surface plasmon resonance sensing. In: **2014 IEEE International Instrumentation and Measurement Technology Conference (I2MTC) Proceedings**. [S.l.: s.n.], 2014. p. 1105–1110.
- RUMELHART, D. E.; ZISPSE, D. Feature discovery by competitive learning. **Cognitive Science**, v. 9, p. 75–112, 1985.
- SAJEDIAN, I.; KIM, J.; RHO, J. Predicting resonant properties of plasmonic structures by deep learning. **?**, p. 11, 2018.
- SHARMA, A.; JHA, R.; GUPTA, B. Fiber-optic sensors based on surface plasmon resonance: A comprehensive review. **IEEE Sensors J.**, v. 7, p. 1118–1129, 2007.
- SILVA, I. N. d.; SPATTI, D. H.; FLAUZINO, R. A. **Redes Neurais Artificiais: para engenharia e ciências aplicadas**. São Paulo: Artliber, 2010.

Sipova, H.; HOMOLA, J. Surface plasmon resonance sensing of nucleic acids: a review. **Analytica Chimica Acta**, v. 773, p. 9–23, 2013.

SOUSA, T. de; OLIVEIRA, L.; LOUREIRO, F.; LIMA, A.; NEFF, H. Evaluating the signal processing chain employed in surface plasmon resonance biosensing. **I2MTC Proceedings**, v. 1, p. 1606, 2015.

TOBISKA, P.; HOMOLA jiri. Advanced data processing for spr biosensors. **ELSEVIER**, v. 107, p. 162–169, 2004.

TURBADAR, T. Complete absorption of light by thin metal films. **Proceedings of the Physical Society**, v. 73, p. 40–44, 1959.

Wang, X.; Jefferson, M.; Hobbs, P. C. D.; Risk, W. P.; Feller, B. E.; Miller, R. D.; Knoesen, A. Shot-noise limited detection for surface plasmon sensing. **OPTICS EXPRESS**, v. 19, 2011.

WOOD, R. W. On a remarkable case of uneven distribution of light in a diffraction grating spectrum. v. 18, p. 269–275, 1902.

Xiaozhong, L.; Jing, S.; Wenhua, G.; GAOLi. Deep neural network for plasmonic sensor modeling. **Optical Materials Express**, v. 9, p. 3857–3862, 2019.

ZHAN, S.; SHI, C.; OU, H.; SONG, H.; WANG, X. A real-time de-noising method applied for transient and weak biomolecular interaction analysis in surface plasmon resonance biosensing. **Measurement Science and Technology**, v. 27, p. 8, 2016.