



Daniela de Mattos Szwarcman

**Método para quantificação dos componentes do
leite utilizando fotodetectores de infravermelho
baseados em nanoestruturas**

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada como requisito parcial para
obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-
Graduação em Engenharia Elétrica da PUC-Rio.

Orientadora: Prof.^a Patrícia Lustoza de Souza
Co-orientador: Prof. Maurício Pamplona Pires

Rio de Janeiro
Março de 2016



Daniela de Mattos Szwarcman

Método para quantificação dos componentes do leite utilizando fotodetectores de infravermelho baseados em nanoestruturas

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica do Departamento de Engenharia Elétrica do Centro Técnico Científico da PUC-Rio. Aprovada pela Comissão Examinadora abaixo assinada.

Prof.^a Patrícia Lustoza de Souza

Orientadora

Centro de Estudos em Telecomunicações - PUC-Rio

Prof. Maurício Pamplona Pires

Co-Orientador

UFRJ

Prof.^a Maria José Valenzuela Bell

UFJF

Prof. Marco Antonio Grivet Mattoso Maia

Centro de Estudos em Telecomunicações - PUC-Rio

Prof. Carlos Roberto Hall Barbosa

Programa de Pós-Graduação em Metrologia – PUC-Rio

Prof. Márcio da Silveira Carvalho

Coordenador Setorial do Centro

Técnico Científico – PUC-Rio

Rio de Janeiro, 4 de março de 2016

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização do autor, da orientadora e da universidade.

Daniela de Mattos Swarcman

Graduou-se em Engenharia Elétrica, com Ênfase em Eletrônica e Computadores, pela Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio) em 2013. Contemplada com bolsa FAPERJ - Nota 10, no mestrado.

Ficha Catalográfica

Szwarcman, Daniela de Mattos

Método para quantificação dos componentes do leite utilizando fotodetectores de infravermelho baseados em nanoestruturas / Daniela de Mattos Swarcman ; orientadora: Patrícia Lustoza de Souza ; co-orientador: Maurício Pamplona Pires. – 2016.

46 f. : il. (color.) ; 30 cm

Dissertação (mestrado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Departamento de Engenharia Elétrica, 2016.

Inclui bibliografia

1. Engenharia elétrica – Teses. 2. Fotodetectores. 3. Infravermelho. 4. Pontos quânticos. 5. Leite. 6. Proteína. I. Souza, Patrícia Lustoza de. II. Pires, Maurício Pamplona. III. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro. Departamento de Engenharia Elétrica. IV. Título.

CDD: 621.3

Agradecimentos

À minha orientadora Patrícia, por sempre estar presente e de portas abertas, mas principalmente pela compreensão e apoio na busca de um trabalho do jeito que eu queria.

Ao meu co-orientador Maurício, por todo o auxílio e pelo bom humor diário.

À Prof. Maria Jose, por toda a ajuda e apoio, principalmente ao proporcionar a minha ida à UFJF.

Aos colegas da UFJF, que me acolheram, ensinaram e auxiliaram nas medidas.

Ao Prof. Marcos Degani, por fornecer o software de simulação além das explicações e exemplos que facilitaram o aprendizado.

Ao CNPq e Faperj, pelos auxílios concedidos, sem os quais este trabalho não poderia ter sido realizado.

Aos amigos do Labsem, pela diversão de cada dia: Elaine, Marcelo, Luciana, Guilherme, Lesslie, Rudy, José, Pedro, Amanda, Eleonora, Loïk, Roberto, Eric, Janeth, Germano, Daniel e Dona Paulina. Em especial, àqueles que me ajudaram diretamente – e constantemente – com este trabalho: Marcelo, Rudy e Guilherme por todos os momentos que eu pedi “socorro” e pelos ensinamentos de laboratório; Luciana, minha mentora de química orgânica, por sempre buscar ajudar de todas as formas possíveis; Lesslie, por tudo que eu aprendi “ao vivo” sobre o FTIR.

Aos meus pais, Dilza e Moisés, por todo o apoio, carinho, paciência, amor, compreensão, incentivo, conversas, conselhos e, sobretudo, por serem meu porto-seguro.

À minha irmã Clara, por ser minha eterna companheira e amiga, que me entende como ninguém, além de sempre me alegrar e me fazer rir.

E à pessoa que me inspira e me fortalece todos os dias: Gustavo, obrigada por todos os anos que passamos juntos, por todo o amor, carinho, compreensão, cuidado, risadas, abraços e pelo apoio fundamental nos últimos meses.

Resumo

Szwarcman, Daniela de Mattos; Souza, Patrícia Lustoza de. **Método para quantificação dos componentes do leite utilizando fotodetectores de infravermelho baseados em nanoestruturas**. Rio de Janeiro, 2016. 91p. Dissertação de Mestrado - Departamento de Engenharia Elétrica, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

No ano de 2014, o Brasil ocupou o quinto lugar no ranking mundial de produção de leite. No entanto, a produtividade média foi baixa, comparada aos outros grandes produtores. A avaliação da qualidade do leite é importante para melhorar a produtividade, pois ela auxilia na identificação de fatores que prejudicam a produção. As quantidades de proteína e gordura no leite são utilizadas como critérios de qualidade e, geralmente, medidas por equipamentos baseados em técnicas de espectroscopia no infravermelho. Esses equipamentos possuem alto custo e são adequados somente para uso em laboratório. Este trabalho tem como objetivo avaliar o uso de fotodetectores baseados em nanoestruturas na quantificação da proteína do leite, visando um dispositivo portátil e de baixo custo. Para isso, técnicas de espectroscopia no infravermelho foram utilizadas no estudo do leite, da sua proteína e de algumas adulterações. A resposta dos fotodetectores (corrente) também foi analisada através da espectroscopia no infravermelho. Finalmente, uma simulação experimental do dispositivo completo foi feita e os resultados comparados com os estudos de espectroscopia. Com base nessas comparações, constatou-se a viabilidade de se utilizar os fotodetectores baseados em nanoestruturas na quantificação da proteína do leite.

Palavras-chave

Fotodetectores; Infravermelho; Pontos quânticos; Leite; Proteína.

Abstract

Szwarcman, Daniela de Mattos; Souza, Patrícia Lustoza de (Advisor). **Method for quantifying milk components using infrared photodetectors based on nanostructures**. Rio de Janeiro, 2016. 91p. MSc Dissertation - Departamento de Engenharia Elétrica, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro.

In 2014, Brazil occupied the fifth position in the world ranking of milk production. However, the average productivity was small compared to the other major producers. Quality evaluation is important for improving milk productivity, as it helps to identify factors that hinder production. The quantities of protein and fat in milk are used as quality standards, and they are usually measured with instruments based on infrared spectroscopy techniques. These devices are expensive and they are only suitable for laboratory use. This study intends to evaluate the application of photodetectors based on nanostructures in the quantification of milk protein, aiming at the production of a portable and inexpensive device. In order to accomplish this, infrared spectroscopy techniques were used in the study of milk, protein and milk adulteration. The photodetectors' response (current) was also analyzed by infrared spectroscopy. Later, an experimental simulation of the final device was done and the results were compared with the spectroscopy studies. Given these relations, it was found that photodetectors based on nanostructures can be used in the quantification of milk protein.

Keywords

Photodetectors; Infrared; Quantum dots; Milk; Protein.

Sumário

1 Introdução	27
1.1 O leite em números	27
1.2 Qualidade do leite	29
1.3 Objetivo do trabalho.....	31
2 Fotodetectores de infravermelho baseados em transições intrabanda	33
2.1 Poços quânticos	33
2.1.1 Fotodetectores baseados em poços quânticos (QWIPs).....	35
2.1.2 Considerações importantes	38
2.2 Pontos quânticos	39
2.2.1 Crescimento de pontos quânticos.....	40
2.2.2 Fotodetectores baseados em pontos quânticos (QDIPs)	41
3 Espectroscopia no Infravermelho	43
3.1 Espectroscopia no infravermelho de proteínas.....	44
3.2 Espectrômetro FTIR	45
3.3 Lei de Beer-Lambert	47
4 Metodologia.....	49
4.1 Preparo das amostras	49
4.2 Medidas de absorção no FTIR.....	53
4.3 Escolha dos fotodetectores	55
4.4 Medidas de fotocorrente no FTIR	57
4.5 Simulação do dispositivo de fotodeteccção da proteína do leite	59
5 Resultados e discussões.....	61

5.1 Medidas de absorção no FTIR.....	61
5.1.1 Comparação das amostras de leite seco e líquido	61
5.1.2 Leite integral, semidesnatado e desnatado	65
5.1.3 Adulterações do leite	66
5.1.4 Caseína	69
5.2 Medidas de fotocorrente no FTIR	71
5.2.1 Fotodetector A	72
5.2.2 Fotodetector B	76
5.3 Simulação do dispositivo de fotodetecção da proteína do leite	78
5.4 Proposta de um fotodetector para a quantificação da proteína do leite	83
 6 Conclusão	 85
 7 Referências Bibliográficas	 87

Lista de figuras

Figura 1.1:	Evolução da produção anual de leite e da aquisição anual de leite cru pelos laticínios no Brasil.	28
Figura 1.2:	Esquemático dos elementos estruturais do leite.	30
Figura 2.1:	(a) Heteroestrutura de um poço quântico – sobreposição de dois materiais em um substrato. (b) Bandas de energia referentes à heteroestrutura	34
Figura 2.2:	Ψ_2 para um poço unidimensional de barreiras infinitas (a) e para um poço de barreiras finitas (b)	35
Figura 2.3:	Estrutura de poços quânticos múltiplos (MQW) e super-rede	35
Figura 2.4:	Estrutura MQW com ddp aplicada - elétrons fotoexcitados escapam dos poços e são guiados pelo campo elétrico	36
Figura 2.5:	Mecanismos de geração de corrente de escuro.....	36
Figura 2.6:	Mecanismos de transição intrabanda em poços quânticos	37
Figura 2.7:	Comparação da absorção para diversos tipos de QWIPs de GaAs/ $\text{Al}_x\text{Ga}_{1-x}\text{As}$	38
Figura 2.8:	Comparação da corrente de escuro para QWIPs <i>bound-to-continuum</i> e <i>bound-to-quasi-bound</i> em função da tensão de polarização a 55 K.....	38
Figura 2.9:	Esquemas de acoplamento óptico - polimento a 45° (a) e grade de difração (b) [20,24,29]	39
Figura 2.10:	Densidades de estado para diferentes estruturas.....	40
Figura 2.11:	Estrutura de um QDIP	41
Figura 2.12:	Transições intrabanda em um ponto quântico: <i>bound-to-bound</i> (vermelho) e <i>bound-to-continuum</i> (verde)	42
Figura 3.1:	(a) Tipos de vibração. (b) Fatores que afetam os picos de absorção no infravermelho.....	43
Figura 3.2:	Estrutura geral de um aminoácido.....	44

Figura 3.3:	Ligação peptídica entre dois aminoácidos	45
Figura 3.4:	Esquema do interferômetro de Michelson.....	45
Figura 3.5:	Interferograma e o seu espectro obtido por Transformada de Fourier.....	46
Figura 3.6:	Amostra de espessura L de um certo componente iluminada por uma intensidade I_{in} . I_{tr} é a intensidade transmitida	47
Figura 4.1:	Célula SL-2 da ICL para líquidos.....	50
Figura 4.2:	Gotas de leite antes e depois do processo de secagem.	50
Figura 4.3:	Pilão de ágata e pastilhador	52
Figura 4.4:	Amostra de caseína em solução de NaOH após o processo de secagem (4 min.)	52
Figura 4.5:	Esquema simplificado do FTIR Nicolet 8700 da Thermo Scientific, mostrando o caminho óptico da luz infravermelha.	53
Figura 4.6:	Esquema de interferência em uma célula para líquidos - a luz incidente é refletida diversas vezes	54
Figura 4.7:	Exemplo de fotocorrente adequada para detectar um determinado pico de absorção	55
Figura 4.8:	Estrutura e banda de condução - Fotodetector A.....	56
Figura 4.9:	Estrutura e banda de condução - Fotodetector B.....	56
Figura 4.10:	Fotodetector A (direita) e Fotodetector B (esquerda), já montados nos <i>chips</i>	57
Figura 4.11:	Esquema do FTIR com o feixe de IR direcionado para fora do equipamento.	57
Figura 4.12:	Montagem para a medição de fotocorrente.....	58
Figura 5.1:	Espectro de absorção do leite - média de 30 amostras de 40 μ L de leite seco.....	61
Figura 5.2:	Espectros de 30 amostras de leite seco, antes (esquerda) e depois (direita) da correção de espalhamento via <i>software</i>	62
Figura 5.3:	Espectros das 50 amostras de leite líquido, antes (esquerda) e depois (direita) da correção de espalhamento via <i>software</i>	63

Figura 5.4: Comparação da absorbância do leite (média das 50 amostras) e da água.	63
Figura 5.5: Espectro do leite líquido após subtração da absorbância da água.	64
Figura 5.6: Eliminação das franjas de interferência - Interferogramas (a) e seus respectivos espectros (b).	65
Figura 5.7: Comparação entre leite integral, semidesnatado e desnatado.	65
Figura 5.8: Leite desnatado puro e diluições com água - 10% e 25%.	66
Figura 5.9: Absorbância do NaOH em solução 0,5 M (linha de base corrigida) - amostra passou pelo processo de secagem.	67
Figura 5.10: Espectros do leite adulterado com solução 0,5 M de NaOH (10%, 5% e 2%).	67
Figura 5.11: (a) Espectro do bicarbonato de sódio. (b) Espectro das amostras de leite adulteradas com bicarbonato; as setas indicam alguns picos do bicarbonato.	68
Figura 5.12: Detalhe dos espectros de leite adulterado com bicarbonato de sódio.	68
Figura 5.13: Espectro da caseína em pó em uma pastilha de KBr.	69
Figura 5.14: (a) Espectro da amostra de 5% de caseína em solução de NaOH. (b) Espectro da amostra de 5% de caseína em solução de NaOH + H ₂ O.	70
Figura 5.15: Diversas concentrações de caseína em solução de NaOH (a) e em solução de NaOH + H ₂ O (b).	70
Figura 5.16: Variação da absorbância para os picos Amida I e II nas diluições com solução de NaOH (a) e água (b).	71
Figura 5.17: Espectro de fotocorrente do detector A (a) e detalhe da região de interesse (b).	72
Figura 5.18: Espectros de fotocorrente do detector A com leite integral e desnatado.	73
Figura 5.19: Ajuste dos picos de fotocorrente do detector A (esquerda) e dos picos de absorbância Amida I, Amida II e Gordura A (direita).	74
Figura 5.20: Determinação da resposta do detector A para diversas	

concentrações de leite integral (a) e área das curvas calculadas (b).....	75
Figura 5.21: Espectros de fotocorrente do detector A para diluições do leite com água.....	76
Figura 5.22: (a) Espectro de fotocorrente do detector B. (b) Detalhe da região de interesse.....	77
Figura 5.23: Espectro da fotocorrente do detector B com leite integral.	78
Figura 5.24: Intensidades de fotocorrente no detector A em função da concentração de leite na diluição.....	79
Figura 5.25: Intensidades normalizadas de fotocorrente no detector A, em função da concentração de leite na diluição.....	79
Figura 5.26: Intensidades de fotocorrente no detector B em função da concentração de leite na diluição.....	80
Figura 5.27: Intensidades normalizadas de fotocorrente do detector A para amostras de leite integral, semidesnatado e desnatado.....	81
Figura 5.28: Intensidades de fotocorrente do detector A para amostras de leite adulteradas.....	81
Figura 5.29: Intensidades de fotocorrente no detector B para amostras de caseína diluídas em solução de NaOH (a) e água (b).....	82
Figura 5.30: Absorbância do leite integral em função da energia.....	83
Figura 5.31: Estrutura de um poço quântico de GaAs/Al _x Ga _{1-x} As, simulada no software de [72].....	84

Lista de tabelas

Tabela 1.1: Maiores produtores de leite no mundo - Dados de 2014.....	27
Tabela 1.2: Características da produção de leite no Rio Grande do Sul	28
Tabela 1.3: Composição do leite bovino (g/100g)	29
Tabela 3.1: Grupos funcionais e suas regiões de absorção no infravermelho	44
Tabela 4.1: Resumo das soluções de adulteração preparadas	51
Tabela 4.2: Parâmetros das medidas de absorção	53

1 Introdução

1.1 O leite em números

O Brasil está entre os maiores produtores de leite do mundo, de acordo com dados do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (*United States Department of Agriculture* - USDA). No ano de 2014, o Brasil ocupou o quinto lugar no ranking mundial de produção de leite [1] e o terceiro lugar em relação ao efetivo de vacas ordenhadas [2]. Contudo, observando a terceira coluna da Tabela 1.1, pode-se notar que a produtividade média de leite no Brasil é baixa se comparada a de países como Estados Unidos e China. Com isso, conclui-se que há espaço para melhorias no processo produtivo do leite no país, com o intuito de evitar desperdícios, melhorar a qualidade do produto e, conseqüentemente, a produtividade.

Tabela 1.1: Maiores produtores de leite no mundo - Dados de 2014 [1,2]

País/Região	Produção de Leite (1000 toneladas)	Vacas Ordenhadas (x 1000)	Produtividade média* (toneladas/vaca)
União Européia	146 500	23 481	6,24
Estados Unidos	93 461	9 256	10,10
Índia	60 500	50 500	1,20
China	37 250	8 500	4,38
Brasil	33 350	20 680	1,61
Rússia	30 553	8 050	3,80
Total mundial	485 135	140 236	3,46

*Calculada a partir dos dados fornecidos

A Figura 1.1 mostra a evolução da produção de leite e da aquisição de leite cru pelos laticínios sob inspeção sanitária nos últimos dez anos no Brasil [3]. A diferença entre o total de leite produzido no país e o total adquirido pela indústria confirma que há produção não fiscalizada. Em 2014, essa diferença ultrapassou os dez bilhões de litros [4]. Esses dados reforçam a necessidade de avanços na fiscalização e controle da qualidade do leite produzido no Brasil. A relevância econômica do leite no país também justifica investimentos em medidas que visam melhorar a produtividade: o valor de produção de leite em 2014 foi de R\$ 33,78 bilhões [4].

No contexto nacional, pode-se destacar a Região Sul, que passou a ser a maior produtora de leite no país em 2014. Apesar disso, o estado de Minas Gerais ainda é o principal produtor, respondendo por 26,6% do leite nacional. Já em

relação à produtividade, o estado do Rio Grande do Sul obteve o melhor resultado em 2014 (3 034 litros/vaca/ano) [4,5].

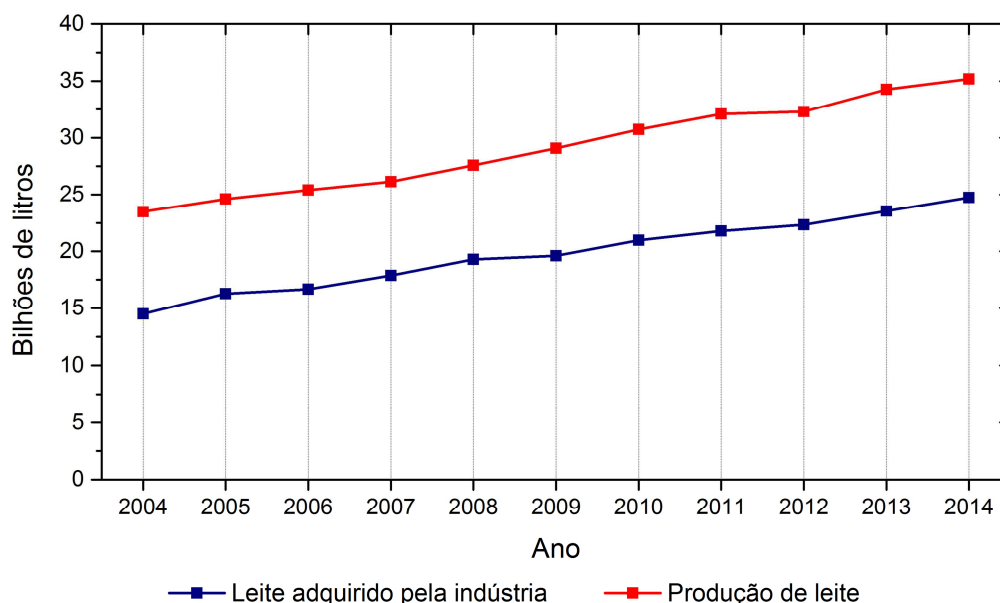


Figura 1.1: Evolução da produção anual de leite e da aquisição anual de leite cru pelos laticínios no Brasil [3]

Dado o destaque do Rio Grande do Sul quanto à produtividade, pode-se analisar as características da produção de leite no estado, com o objetivo de identificar os fatores que contribuem para esse resultado. A Tabela 1.2 resume os dados de uma pesquisa realizada em propriedades do estado em 2012 [6].

Tabela 1.2: Características da produção de leite no Rio Grande do Sul [6]

Tamanho médio das propriedades	26 hectares
Produtividade média	6,8 L / vaca / dia (2482 L / vaca / ano)
Escolaridade dos proprietários	67,9% não concluíram o ensino fundamental
Procedimento de ordenha	60,7% utilizam ordenha mecânica
Testes de qualidade do leite	
Contagem média de células somáticas	71,9% estão dentro do limite legal
Contagem bacteriana total	48,5% estão dentro do limite legal

A partir das informações apresentadas, constata-se que há predomínio de pequenos proprietários com baixo grau de escolaridade. Também é possível observar o alto índice de propriedades que não estão de acordo com os limites legais para os testes de qualidade do leite. Com isso, é interessante notar que, embora o estado possua a melhor produtividade do país, ele apresenta características não favoráveis a esse resultado, o que significa que há margem para melhorias.

1.2

Qualidade do leite

A avaliação da qualidade do leite é importante do ponto de vista econômico: a identificação de fatores que prejudicam a produção é um passo essencial para melhorar a produtividade. Alguns países, inclusive, adotam o resultado de testes de qualidade como base de pagamento para o produtor [7], o que serve de incentivo para melhorar a qualidade do leite produzido.

A qualidade do leite pode ser definida por alguns parâmetros fundamentais: as condições higiênicas, os critérios físicos e os químicos. As condições higiênicas são caracterizadas pelo nível de contaminação por microrganismos. Já os critérios físicos estão associados à acidez, temperatura e densidade do leite. Por fim, os critérios químicos dizem respeito à composição do leite [7,8], isto é, as quantidades de água, lipídios, proteínas, lactose e sais [9,10]. A Tabela 1.3 mostra a proporção média desses componentes no leite bovino [11].

Tabela 1.3: Composição do leite bovino (percentual em massa) [11]

Água	87,3%
Lipídios	3,9%
Proteínas	3,25%
Lactose	4,6%
Minerais	0,14%
Outros	0,81%

A lactose é o carboidrato característico do leite e a principal fonte de energia de bactérias que crescem nele: ela é hidrolisada pelos microrganismos para formar glicose e galactose, as quais são fermentadas em ácido lático [12].

Definem-se como lipídios os componentes de alimentos e tecidos que são solúveis em solventes apolares, como o metanol, e insolúveis em água. Alternativamente, utiliza-se o termo “gordura” [9,12,13].

O leite contém dois tipos de proteína que podem ser separados através de um processo de acidificação, diminuindo seu pH natural de cerca de 6,7 para 4,6. A caseína, presente no leite em forma de micelas (Figura 1.2), precipita com esse pH ácido e representa cerca de 80% do total de proteínas. O restante são as proteínas do soro, ou *whey protein*, que estão dissolvidas no leite [9,12].

As micelas de caseína são partículas coloidais, com diâmetros que variam de 50 nm a 600 nm [9]. Uma micela possui, em média, cerca de 5000 moléculas de caseína, que podem ser de quatro tipos: α_{s1} -, α_{s2} -, β - e κ -caseína. Os tipos α e β precipitam na presença de íons Ca^{2+} , enquanto a κ -caseína é solúvel em altas concentrações de cálcio. Ela, então, reage com as caseínas sensíveis ao cálcio, estabilizando-as com a formação das micelas. No processo de acidificação, as micelas são desintegradas e ocorre a precipitação da caseína. Essa desintegração também pode ocorrer com o aumento do pH para cerca de 9. De uma maneira geral, a estabilidade e comportamento das micelas depende fortemente do pH [9,12].

Tradicionalmente, utilizam-se as quantidades de proteína e gordura como critérios químicos de qualidade [7,8], sendo a proteína o componente de maior valor econômico dentre os citados anteriormente [14].

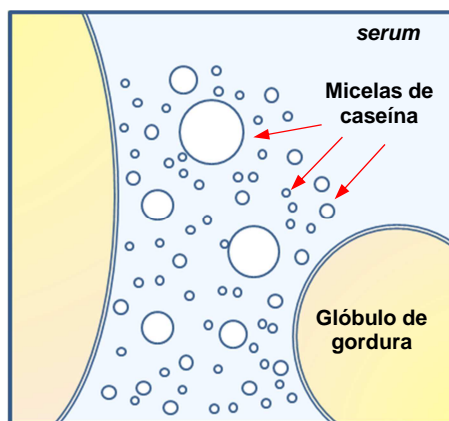


Figura 1.2: Esquemático dos elementos estruturais do leite. Adaptado de [12].

Diversos fatores afetam os parâmetros utilizados para avaliar a qualidade do leite. As quantidades de proteína e lipídios são influenciadas pela raça do animal e pela sua alimentação [8], por exemplo. Já a contaminação por microrganismos causa acidificação do leite e deterioração das proteínas e lipídios [15]. Além disso, é importante lembrar que há diferentes formas de adulteração do leite que afetam a sua qualidade e segurança para o consumo. Entre elas, pode-se mencionar a adição de água, para aumentar o volume, e de neutralizadores de acidez, para mascarar produtos contaminados [16].

Para analisar cada parâmetro de qualidade, é necessário realizar um teste específico. No caso da avaliação das condições higiênicas, os principais testes utilizados são: a Contagem de Células Somáticas (CCS), que indica a saúde das glândulas mamárias do animal, e a Contagem Bacteriana Total (CBT), cujo alto valor revela condições de higiene precárias na ordenha, armazenamento ou transporte do leite [15]. Para a quantificação dos componentes do leite, equipamentos baseados em técnicas de espectroscopia no infravermelho estão disponíveis no mercado e vêm substituindo métodos tradicionais que demandam tempo e reagentes químicos [17]. Porém, esses equipamentos são de alto custo e adequados somente para uso em laboratório.

Em relação à adulteração do leite, um método analítico específico deve ser desenvolvido para cada novo adulterante que é descoberto, aumentando indefinidamente o número de testes necessários. Vale ressaltar que, mesmo na ausência das substâncias investigadas, não se pode garantir a autenticidade do leite, já que outras substâncias podem estar presentes [18].

Nos países desenvolvidos, testes de qualidade de rotina são feitos no nível das fazendas, promovidos pelo próprio setor de laticínios. É possível realizá-los frequentemente, já que o número de propriedades que entregam leite aos laticínios é limitado – poucas fazendas, com grande volume de produção. Porém, o mesmo não ocorre em países em desenvolvimento, pois as propriedades são, na sua maioria, de pequeno porte e entregam uma pequena quantidade de leite aos laticínios diariamente [8].

Normalmente, para reduzir custos de coleta, uma infraestrutura intermediária é estabelecida entre os pequenos proprietários e os laticínios. Essa infraestrutura é fundamental na política de laticínios nos países emergentes, porém há limitações em relação ao controle da qualidade do leite. Isso ocorre pois os testes de qualidade são realizados em amostras de tanques coletivos, que armazenam leite produzido por muitas propriedades, já que o custo de analisar cada fazenda seria

muito alto. Além disso, o pagamento é feito de acordo com a qualidade coletiva do leite, não promovendo o incentivo de melhoria do produto mencionado anteriormente [8].

Com base nos dados apresentados, entende-se que há uma demanda por novos métodos de avaliação da qualidade do leite, os quais devem ser rápidos, de baixo custo e adequados para utilização nas próprias fazendas.

1.3

Objetivo do trabalho

No presente trabalho, estuda-se a possibilidade de se utilizar o princípio da fotodeteção no infravermelho para quantificar os componentes do leite de maneira mais simples do que os equipamentos baseados em espectroscopia.

Esses equipamentos utilizam uma fonte de infravermelho e um detector – ambos de espectro largo – para analisar a absorção do leite em função do comprimento de onda, em uma ampla faixa do infravermelho. O instrumento necessita de um mecanismo capaz de resolver o feixe detectado em suas componentes de frequência, o que eleva os custos e o tamanho físico do sistema.

Considerando que cada componente do leite absorve radiação infravermelha em comprimentos de onda específicos, para quantificar um determinado elemento, é possível analisar a resposta do detector apenas nesses comprimentos de onda. Isso pode ser feito de duas formas: utilizando uma fonte de luz na faixa desejada, como um laser, ou um detector que responda somente à radiação nesses comprimentos de onda. Em ambos os casos, não é necessário obter e estudar um espectro, basta medir a corrente gerada pelo detector, a qual é proporcional à radiação incidente.

Neste trabalho, pretende-se avaliar o desempenho de fotodetectores baseados em nanoestruturas para a quantificação da proteína do leite, visando a fabricação de um instrumento portátil e de baixo custo. Esses detectores trabalham em uma faixa restrita do infravermelho, a qual pode ser definida no processo de fabricação. Assim, o dispositivo idealizado consiste, essencialmente, em uma lâmpada de infravermelho de espectro largo e um fotodetector seletivo. A luz que incide na amostra de leite é absorvida em determinados comprimentos de onda e o restante é transmitido para o detector, gerando uma corrente que será medida.

Além da avaliação dos detectores em si, também se deseja estabelecer uma forma adequada de preparo das amostras de leite, para que os resultados sejam reprodutíveis.

Algumas adulterações do leite também serão estudadas a fim de determinar se a presença dessas substâncias pode ser identificada com o dispositivo proposto.

Os conceitos teóricos necessários para a realização deste trabalho serão apresentados nos capítulos 2 e 3, os quais tratam, respectivamente, dos fotodetectores baseados em nanoestruturas e da técnica de espectroscopia no infravermelho. O capítulo 3 também inclui conceitos específicos da espectroscopia de proteínas.

No capítulo 4, descreve-se a metodologia de trabalho, que envolve o preparo das amostras, as medições de espectroscopia e a simulação experimental do dispositivo sugerido.

Finalmente, os resultados são apresentados e discutidos no capítulo 5 e as conclusões, no capítulo 6.

2

Fotodetectores de infravermelho baseados em transições intrabanda

Fotodetectores tradicionais, como o HgCdTe (MCT – Telureto de Mercúrio e Cádmio), utilizam a transição interbanda como mecanismo de detecção. Neste tipo de transição, elétrons na banda de valência são promovidos para a banda de condução através da absorção de fótons com energia igual ou superior à energia do *gap* E_g , gerando pares elétron-buraco. A absorção de fótons nessas condições é limitada pelo *gap* do material, isto é, radiações com energia inferior a E_g não serão absorvidas [19,20].

Na estrutura de detector, os portadores são coletados, produzindo uma fotocorrente que pode ser medida em um circuito externo [19,20]. Controlando E_g – variando a composição da liga $\text{Hg}_{1-x}\text{Cd}_x\text{Te}$, por exemplo – é possível alterar o espectro da absorção e, conseqüentemente, a resposta do detector em função do comprimento de onda. Para detectar energias menores, é necessário obter *gaps* pequenos com essas ligas. Porém, elas são frágeis e pouco uniformes, o que dificulta o processo de fabricação, principalmente para as de *gap* menor [20,21].

A absorção intrabanda, que envolve transições em uma mesma banda, é uma alternativa para fazer uso dos materiais de *gap* maior e ainda sim detectar radiações de baixa energia. Uma maneira de se criar esses estados na banda de condução ou valência é utilizando poços quânticos [20].

2.1

Poços quânticos

Uma heterojunção é formada ao sobrepor dois semicondutores de parâmetros de rede compatíveis e com *gaps* diferentes. Um poço quântico é obtido com a sobreposição alternada de dois materiais, formando duas heterojunções, (Figura 2.1). Nesse caso, o material B (e.g., GaAs) deve ter *gap* e espessura menores do que o material A (e.g., $\text{Al}_x\text{Ga}_{1-x}\text{As}$). Assim, o material B forma o poço e o material A, as barreiras [19,22]. Para que ocorra confinamento quântico no poço, a espessura de B deve ser da ordem de grandeza do comprimento de onda de De Broglie dos portadores de carga – dado por $\lambda = \hbar/p$, onde p é o momento dos portadores. Com isso, temos um sistema bidimensional, no qual o movimento dos portadores é quantizado na direção do crescimento da heteroestrutura, indicada por uma seta na Figura 2.1 (a) [23,24].

Para entender o comportamento de um elétron confinado no poço, uma primeira aproximação seria utilizar o modelo da mecânica quântica da “partícula em uma caixa”. Nesse modelo, assume-se que o poço é unidimensional, retangular e possui barreiras infinitas. Resolvendo a equação de Schrödinger independente do tempo (eq. (1)) é possível obter as funções de onda, cujos níveis de energia são dados pela eq. (2), onde L é a largura do poço, m é a massa do elétron e n é um número inteiro [20,25,26]. A energia de transição intrabanda entre o estado

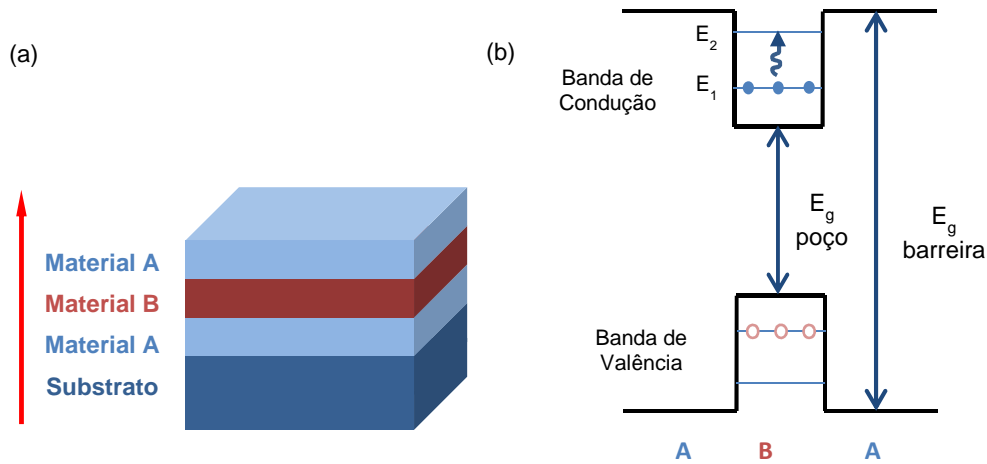


Figura 2.1: (a) Heteroestrutura de um poço quântico – sobreposição de dois materiais em um substrato. (b) Bandas de energia referentes à heteroestrutura

fundamental e o primeiro estado excitado é dada pela eq. (3). Nota-se que, alterando a largura L do poço, é possível variar essa energia de transição. Além disso, em sistemas que utilizam os materiais GaAs/Al_xGa_{1-x}As, por exemplo, variando a razão de alumínio na liga pode-se regular o *gap* do material e, conseqüentemente, a altura das barreiras do poço. Com a flexibilidade destes parâmetros, a energia de transição intrabanda pode ser variada por uma longa faixa do espectro, desde o infravermelho de onda curta (SWIR - $\lambda \approx 2 \mu\text{m}$) até o infravermelho de onda muito longa (VWIR - $\lambda > 14 \mu\text{m}$) [20,21].

$$\frac{d^2\Psi}{dx^2} + \frac{2m}{\hbar^2}(E - V)\Psi = 0 \quad (1)$$

$$E_n = \frac{\hbar^2 \pi^2 n^2}{2mL^2} \quad (2)$$

$$E_2 - E_1 = \frac{3\hbar^2 \pi^2}{2mL^2} \quad (3)$$

A solução tridimensional é representada pelo produto de $\Psi(x)$, obtida pela eq. (1), com $\Psi(y,z)$. Como o movimento do elétron no plano yz é similar ao de uma partícula livre, $\Psi(y,z)$ pode ser considerada uma onda plana e tanto k_y quanto k_z podem assumir valores contínuos. Os níveis de energia ficam, então [27]:

$$E_{total} = \frac{\hbar^2}{2m} \left(k_y^2 + k_z^2 + \frac{\pi^2 n^2}{L^2} \right) \quad (4)$$

Em uma segunda aproximação, considera-se que as barreiras são finitas. Comparando com o caso anterior, os resultados são modificados nos seguintes aspectos: as energias E_n são menores para o poço de barreira finita, o número de estados ligados no poço é finito e as funções de onda do elétron penetram nas

barreiras, decaindo exponencialmente [24]. A Figura 2.2 ilustra as diferenças mencionadas.

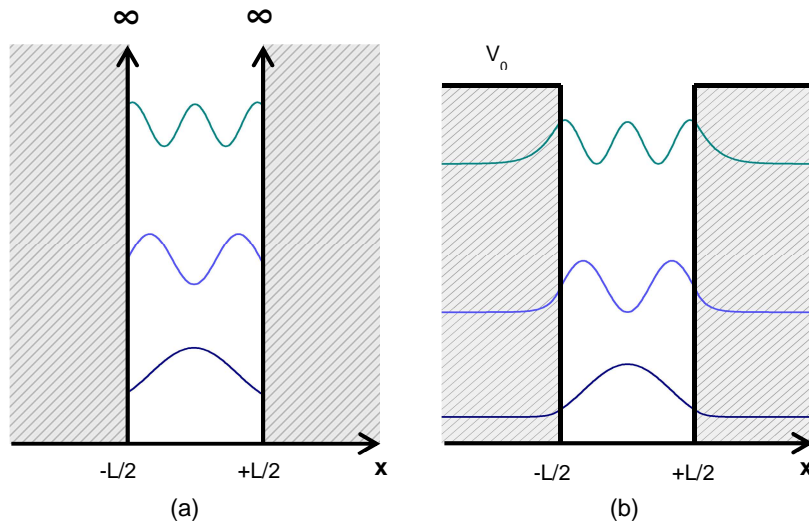


Figura 2.2: $|\Psi|^2$ para um poço unidimensional de barreiras infinitas (a) e para um poço de barreiras finitas (b)

2.1.1

Fotodetectores baseados em poços quânticos (QWIPs)

Dado que a absorção óptica em um único poço é pequena ($> 1\%$), utilizam-se estruturas de poços quânticos múltiplos (MQW) nos QWIPs (*Quantum Well Infrared Photodetectors*) para superar essa limitação [20,28]. Essa estrutura consiste em uma sequência periódica de poços quânticos, separados por barreiras cuja espessura é suficiente para que o acoplamento entre eles seja fraco, isto é, pode-se considerar que os poços se comportam como se estivessem isolados entre si [20,29,30]. Caso as barreiras sejam finas, temos uma estrutura de superrede, na qual o acoplamento será maior, levando à formação de minibandas dentro dos poços. A Figura 2.3 mostra a diferença entre essas estruturas [31].

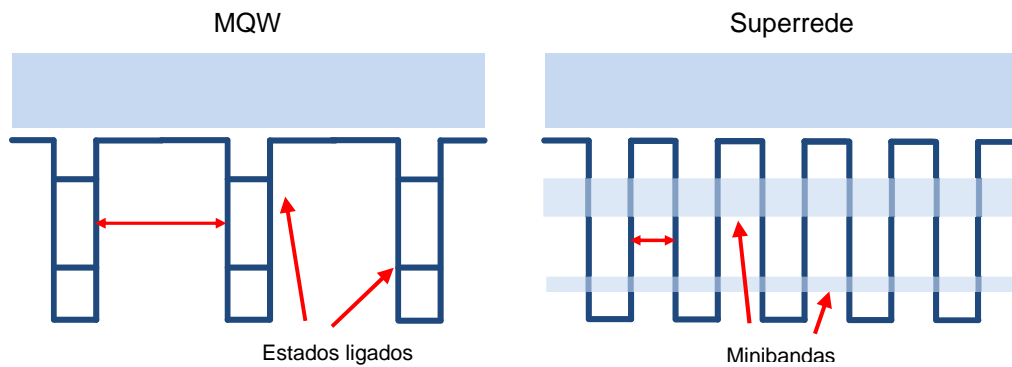


Figura 2.3: Estrutura de poços quânticos múltiplos (MQW) e superrede

Para que uma estrutura MQW seja utilizada como um fotodetector, é necessário que os elétrons excitados pela absorção da radiação infravermelha escapem dos poços e sejam coletados. Aplicando-se uma diferença de potencial entre os contatos da heteroestrutura, os elétrons que escaparem para o contínuo se movem de acordo com o campo elétrico, gerando a fotocorrente (Figura 2.4) [20,21,32].

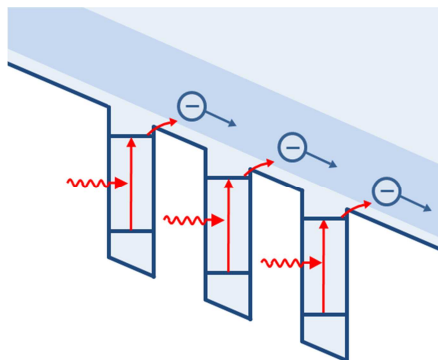


Figura 2.4: Estrutura MQW com ddp aplicada - elétrons fotoexcitados escapam dos poços e são guiados pelo campo elétrico (adaptado de [19])

Entretanto, nem toda a corrente que flui nos QWIPs é devida à absorção de radiação infravermelha. A corrente de escuro é aquela que flui no dispositivo polarizado na ausência de luz, ou seja, é uma fonte de ruído para o fotodetector. Na Figura 2.5, apresentam-se os três mecanismos de geração de corrente de escuro em QWIPs: tunelamento direto, tunelamento termicamente assistido e emissão termiônica.

A baixas temperaturas, a geração de corrente de escuro é basicamente devida ao tunelamento direto, o qual não depende da temperatura. O mecanismo de tunelamento termicamente assistido torna-se dominante com o aumento da temperatura. Esse processo ocorre em duas etapas: excitação térmica dos elétrons seguida pelo tunelamento através da ponta da barreira para o contínuo. Como esse tunelamento é facilitado pela diferença de potencial (ddp) aplicada, quanto menor for essa diferença, menor será a probabilidade do elétron tunelar. Já a temperaturas ainda mais altas, a corrente de escuro passa a ser dominada pelo transporte de elétrons acima da barreira dos poços, através da emissão termiônica. Nesse mecanismo, os portadores são excitados termicamente para o contínuo e, com a aplicação de uma ddp, eles geram uma corrente elétrica [20,23,29,32].

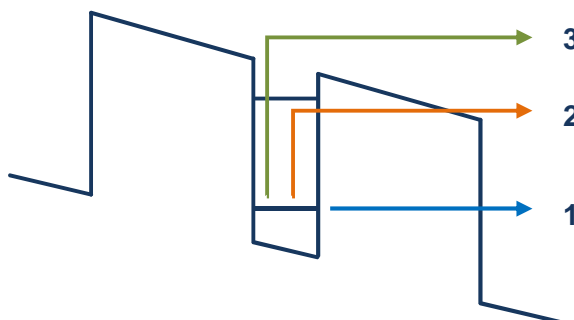


Figura 2.5: Mecanismos de geração de corrente de escuro - 1) tunelamento direto; 2) tunelamento termicamente assistido; 3) emissão termiônica [23]

Como foi visto anteriormente, variando os parâmetros do poço quântico (espessura e composição dos materiais) é possível alterar seus níveis de energia e, com isso, definir o número e a posição de estados ligados dentro do poço. Assim, pode-se escolher o mecanismo de transição intrabanda do elétron. A Figura 2.6 mostra três possíveis transições intrabanda: estado ligado para ligado (*bound-to-bound*), estado ligado para o contínuo (*bound-to-continuum*) e estado ligado para quase ligado (*bound-to-quasi-bound*) [20].

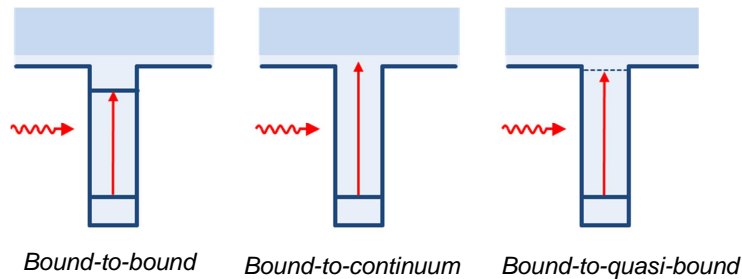


Figura 2.6: Mecanismos de transição intrabanda em poços quânticos

O primeiro caso envolve a transição do estado fundamental do poço para o primeiro estado excitado, também dentro do poço, de onde o elétron pode tunelar para o contínuo. A transição de estado ligado para ligado exige a aplicação de uma ddp relativamente alta e barreiras não muito espessas, para facilitar esse tunelamento [20]. Porém, a corrente de escuro nessas condições também será relativamente alta. Por outro lado, esse tipo de transição possui um espectro de absorção fino ($\Delta\lambda/\lambda = 9\%$, para QWIPs de GaAs/ $\text{Al}_x\text{Ga}_{1-x}\text{As}$ estudados em [20]), o que representa uma vantagem para a fabricação de fotodetectores seletivos. Além disso, a transição é caracterizada por uma grande intensidade de absorção (força de oscilador próxima da unidade) [20,21].

Já nas estruturas baseadas na transição de estado ligado para o contínuo, diminui-se a largura do poço para levar o primeiro estado excitado para o contínuo. Como o elétron pode escapar do poço sem a necessidade de tunelar pela barreira, a ddp aplicada pode ser muito menor, reduzindo a corrente de escuro. Além disso, pode-se aumentar a espessura das barreiras, diminuindo também o tunelamento direto entre poços adjacentes. Em compensação, o espectro de absorção fica mais largo ($\Delta\lambda/\lambda = 33\%$, para QWIPs de GaAs/ $\text{Al}_x\text{Ga}_{1-x}\text{As}$ estudados em [20]), já que o intervalo de energias possíveis na transição para o contínuo é grande. Consequentemente, a intensidade da absorção diminui, devido à conservação da força de oscilador [20,21,32].

Por fim, na transição de estado ligado para quase ligado, o primeiro estado excitado fica no topo do poço, alinhado com a barreira. Nessa estrutura a barreira para emissão termiônica é de 10 a 15 meV maior do que para estruturas de estado ligado para contínuo, o que reduz a corrente de escuro a temperaturas mais altas [23,32]. Além disso, o espectro de absorção é praticamente tão fino quanto o de transições de estado ligado para ligado ($\Delta\lambda/\lambda = 11\%$, para QWIPs de GaAs/ $\text{Al}_x\text{Ga}_{1-x}\text{As}$ estudados em [20]). A Figura 2.7 e a Figura 2.8 mostram a comparação entre os tipos de dispositivo citados para espectro de absorção e corrente de escuro, respectivamente [32,33].

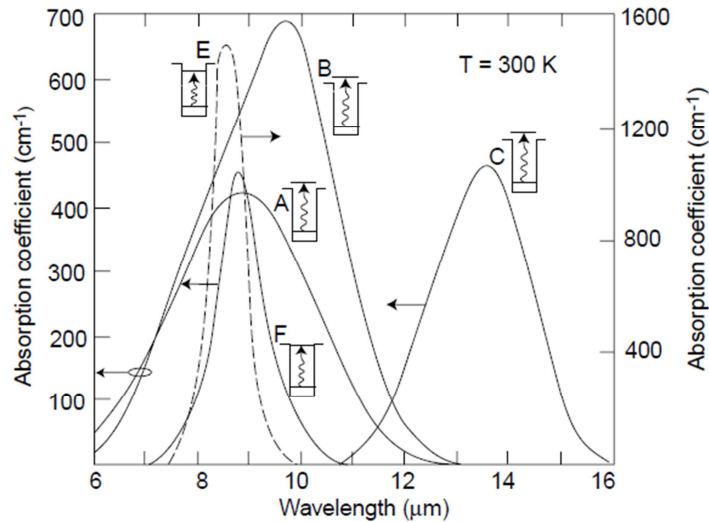


Figura 2.7: Comparação da absorção para diversos tipos de QWIPs de GaAs/Al_xGa_{1-x}As. Amostras A, B e C: *bound-to-continuum* (variando a dopagem, quantidade de alumínio e largura do poço - escala da esquerda). Amostra E - *bound-to-bound* e Amostra F - *bound-to-quasi-bound* (escala da direita). Retirado de [33].

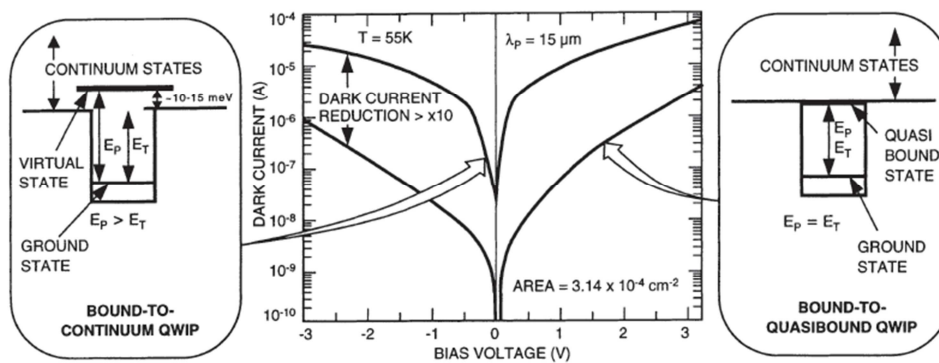


Figura 2.8: Comparação da corrente de escuro para QWIPs *bound-to-continuum* e *bound-to-quasi-bound* em função da tensão de polarização a 55 K. Retirado de [32].

2.1.2 Considerações importantes

É fundamental observar que, nas transições intrabanda, as energias envolvidas na absorção são menores do que o *gap* do material e, portanto, não há criação de portadores, isto é, elétrons não passam da banda de valência para a banda de condução. Assim, se torna necessária a introdução de portadores através da dopagem, para ocupar o nível fundamental do poço na banda de condução, possibilitando a transição intrabanda [20].

Outro aspecto a ser considerado nos QWIPs é a regra de seleção da polarização. As transições intrabanda requerem que o campo elétrico da radiação incidente possua uma componente normal aos planos dos poços quânticos – paralelo à direção de crescimento das camadas. Se a luz incidir normalmente à superfície da heteroestrutura, o campo elétrico fica no mesmo plano dos poços e, portanto, não ocorre absorção. Para contornar essa questão, existem alguns mecanismos de acoplamento óptico, como o polimento da amostra a 45°. A radiação

incide pela face angulada, garantindo uma componente normal ao plano dos poços. Uma alternativa a esse método é a utilização de uma grade de difração no topo do dispositivo: a luz que incide pelo substrato é espalhada pela grade, retornando em direção aos poços com diversos ângulos de polarização [20,24,29,31]. A Figura 2.10 mostra ambos os esquemas.

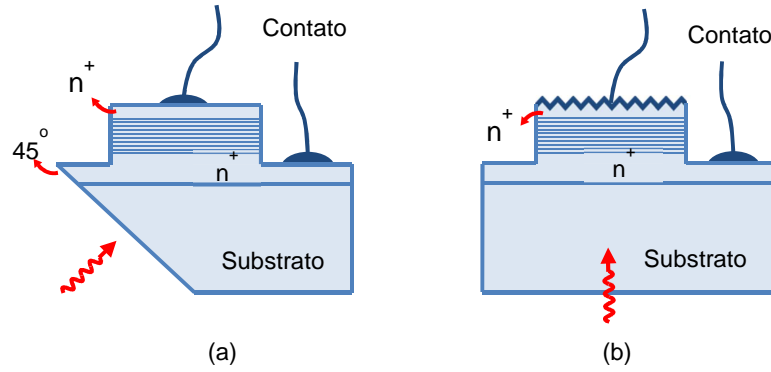


Figura 2.9: Esquemas de acoplamento óptico - polimento a 45° (a) e grade de difração (b) [20,24,29]

2.2 Pontos quânticos

Outra maneira de se criar estados ligados na banda de condução e fazer uso das transições intrabanda é utilizando pontos quânticos [34]. Nessas estruturas, o elétron é confinado nas três direções [27]. Em uma primeira aproximação, podemos retornar ao problema da “partícula na caixa”, porém agora em três dimensões: considera-se o ponto quântico como um paralelepípedo de barreiras infinitas, cujos lados são dados por L_x , L_y e L_z . A solução da equação de Schrödinger (eq. (5)) é dada pelo produto de três funções de onda independentes, isto é, três soluções desacopladas de poços quânticos unidimensionais. A energia total dos estados é dada pela eq. (6) [35]. Nota-se que a energia é quantizada nas três direções.

$$\left[-\frac{\hbar^2}{2m} \left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} + \frac{\partial^2}{\partial z^2} \right) + V(x, y, z) \right] \psi(x, y, z) = E\psi(x, y, z) \quad (5)$$

$$E(n_x, n_y, n_z) = \frac{\hbar^2 \pi^2}{2m} \left(\frac{n_x^2}{L_x^2} + \frac{n_y^2}{L_y^2} + \frac{n_z^2}{L_z^2} \right) \quad (6)$$

Para reforçar a ideia da quantização de energia devida ao confinamento do elétron, a Figura 2.10 mostra as estruturas do semiconductor *bulk*, poço quântico e ponto quântico, assim como as suas respectivas densidades de estado. Estas densidades correspondem ao número de estados permitidos por intervalo de energia em torno de uma energia E : integrando a função densidades de estados $D(E)$ entre E_1 e E_2 , por exemplo, obtém-se o número de estados permitidos neste intervalo [27,35].

É possível observar, de acordo com a Figura 2.10, que a densidade de estados das estruturas reflete o nível de confinamento do elétron. No semiconductor *bulk*, a densidade de estados é contínua na banda de condução. Já no poço quântico, temos uma densidade de estados em degraus: a região entre cada descontinuidade da curva corresponde a uma subbanda de energia, na qual $D(E)$ é constante. Os saltos correspondem a uma transição para a próxima subbanda. Finalmente, no ponto quântico, o elétron está confinado nas três direções e não possui componentes de ondas planas nas suas funções de onda. Os níveis de energia são discretos como em um átomo e a densidade de estados é composta por deltas de Dirac nos níveis de energia $E(n_x n_y n_z)$ [27].

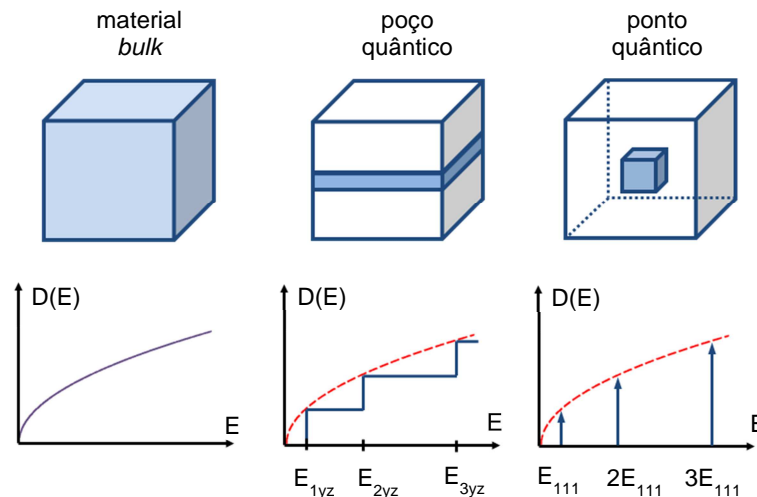


Figura 2.10: Densidades de estado para diferentes estruturas. O zero do eixo de energia corresponde ao fundo da banda de condução. Adaptado de [27] e [35].

Considerou-se o formato do ponto quântico como um paralelepípedo, porém os formatos mais comuns citados na literatura são os piramidais e os em forma de lente. Esse formato tem um papel importante na determinação da estrutura eletrônica dos pontos [36]. Assim, cálculos mais detalhados de estados em pontos quânticos, que consideram a sua forma e o potencial finito das barreiras, podem ser encontrados em [37], [38] e [39].

2.2.1 Crescimento de pontos quânticos

Os métodos mais utilizados no crescimento de pontos quânticos são MBE (*Molecular Beam Epitaxy*) e MOVPE (*Metal Organic Chemical Vapour Deposition*) [34,36]. Com esses métodos, é possível crescer pontos quânticos auto-organizados pela técnica de Stranski-Krastanow, considerada a abordagem mais bem sucedida atualmente [40].

A técnica de Stranski-Krastanow consiste em depositar um material com parâmetro de rede maior do que o do substrato. No caso de pontos de InAs sobre GaAs – materiais mais utilizados para esse fim –, a diferença entre os parâmetros de rede é de aproximadamente 7%. As primeiras monocamadas de InAs cristalizam como camadas epitaxiais tensionadas, porém com o mesmo parâmetro de rede do GaAs (*wetting layer*). Quando uma espessura crítica é atingida, a energia

elástica do sistema (tensão de compressão nas camadas de InAs) é liberada pela formação de pequenas ilhas, distribuídas de forma aleatória: os pontos quânticos [36,37,40].

De maneira geral, as diferentes orientações de substratos e a escolha da combinação de materiais proporcionam certo grau de liberdade no controle dos estados dos pontos e, conseqüentemente, das energias envolvidas na absorção de infravermelho. Por outro lado, o controle de parâmetros físicos dos pontos quânticos auto-organizados ainda é limitado. A formação dos pontos geralmente depende das condições de crescimento, assim como o formato que ele assume. Na verdade, uma das maiores desvantagens dos pontos auto-organizados é a distribuição aleatória de tamanhos [34,36].

2.2.2

Fotodetectores baseados em pontos quânticos (QDIPs)

Na Figura 2.11, pode-se ver uma típica estrutura de um fotodetector baseado em pontos quânticos (QDIP - *Quantum Dot Infrared Photodetector*). A camada ativa de pontos quânticos de InAs encontra-se entre duas barreiras de GaAs: a superior, que cobre os pontos, e a inferior, que funciona como um espaçador para desacoplar as camadas consecutivas de pontos. Também temos as camadas de contato (GaAs dopado n) nas duas extremidades da heteroestrutura. Os pontos quânticos geralmente são dopados com silício, com o intuito de disponibilizar portadores para as transições intrabanda, assim como nos QWIPs [34,36,40].

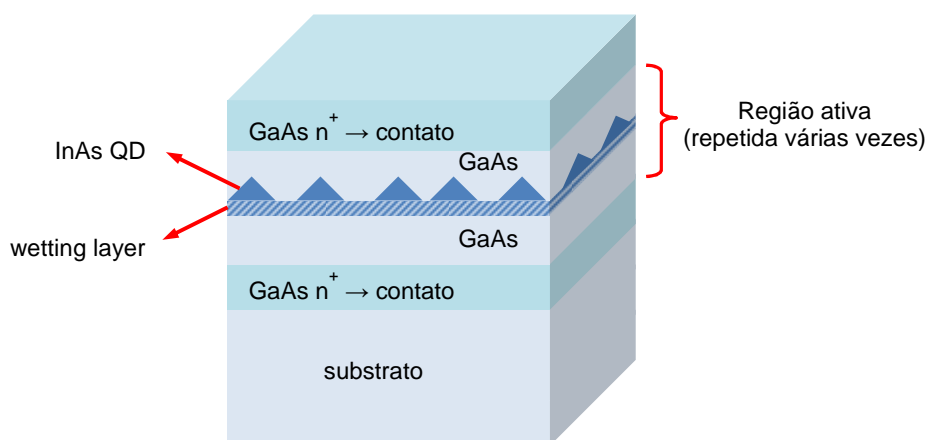


Figura 2.11: Estrutura de um QDIP [44,46,50]

A Figura 2.12 mostra dois mecanismos de transição intrabanda em QDIPs: estado ligado para ligado e estado ligado para contínuo [40]. A transição de estado ligado para quase ligado também é possível. Vale lembrar que, em poços quânticos simétricos, são permitidas somente as transições intrabanda entre estados de paridades distintas, isto é, Δm deve ser ímpar. Em pontos quânticos, essa regra de seleção não é válida, pois a estrutura da banda de condução é assimétrica [36].

Também cabe mencionar que as transições intrabanda em QDIPs podem ocorrer para incidência normal de radiação. Por causa do confinamento nas três dimensões, a regra de seleção da polarização favorece a absorção de luz em todas

as direções. Isso representa uma vantagem em relação aos QWIPs [34,36,40], já que não há necessidade de introduzir mecanismos de acoplamento óptico.

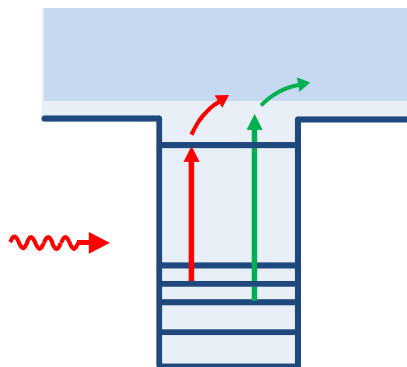


Figura 2.12: Transições intrabanda em um ponto quântico: *bound-to-bound* (vermelho) e *bound-to-continuum* (verde)

Como foi visto anteriormente, no crescimento auto-organizado de pontos quânticos, podemos ter uma distribuição larga e não homogênea de tamanhos. Isso se traduz em um alargamento do espectro de absorção com diminuição da intensidade de absorção (probabilidade de ocorrer a transição). Um conjunto de pontos quânticos uniforme apresentaria um pico de absorção alto e fino, já que todos os pontos absorveriam no mesmo comprimento de onda. Entretanto, se o conjunto não é uniforme, cada ponto absorverá em um comprimento de onda diferente, resultando tanto na diminuição do pico de absorção quanto no seu alargamento – a integral da curva é mantida [40].

De forma genérica, a corrente de escuro em QDIPs segue os mesmos mecanismos que nos QWIPs, ou seja, ela possui as mesmas componentes: emissão termiônica, tunelamento direto e tunelamento termicamente assistido [36]. Por causa do confinamento tridimensional, espera-se que a corrente de escuro em QDIPs seja menor do que em QWIPs. Isso permitirá a operação em temperaturas mais altas, reduzindo a complexidade dos sistemas de resfriamento do detector. Porém, na prática, essa expectativa ainda não foi atingida [34,41].

Em resumo, observa-se que o desafio de se fabricar QDIPs de alto desempenho depende do controle do crescimento dos pontos auto-organizados, que ainda é limitado. Como consequência, a estrutura eletrônica dos pontos é mais dificilmente modificada e otimizada [36].

Na tentativa de aumentar o controle sobre os estados em QDIPs, uma estrutura híbrida, conhecida como DWELL (*dots-in-a-well*), vem sendo investigada. Nessa estrutura, pontos quânticos são crescidos no interior de um poço quântico. As energias de absorção e o mecanismo de transição do fotodetector podem ser alterados através da variação tanto da composição quanto da espessura do poço quântico. Ambos os parâmetros são controlados com maior facilidade [34,41].

3 Espectroscopia no Infravermelho

A absorção de radiação infravermelha excita transições vibracionais das moléculas [42]. Essa interação ocorre de acordo com os modos normais de vibração do sistema.

Uma molécula não linear com N átomos possui $3N - 6$ graus de liberdade vibracionais ou modos normais de vibração [43]. Porém, um modo vibracional absorve radiação infravermelha somente se houver variações no momento de dipolo da molécula durante a vibração. Isso significa que vibrações simétricas geralmente não são detectadas no infravermelho [44]. Da mesma forma, moléculas diatômicas como N_2 e O_2 não dão origem a bandas de absorção nessa região do espectro eletromagnético [45].

A posição aproximada de uma banda de absorção no infravermelho é determinada pelas massas dos átomos, pelo tipo de ligação (simples, dupla, tripla) pelo acoplamento com outras vibrações, entre outros fatores. Exemplos desses efeitos podem ser vistos na Figura 3.1 (b).

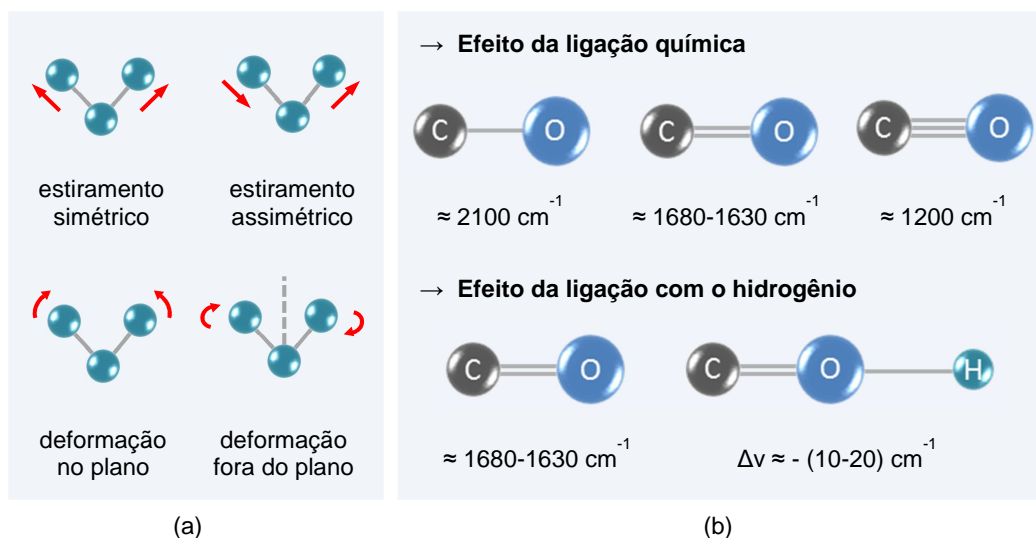


Figura 3.1: (a) Tipos de vibração [45]. (b) Fatores que afetam os picos de absorção no infravermelho [44].

Grupos funcionais podem ser associados a bandas de absorção características no infravermelho [45]. A Tabela 3.1 lista alguns desses grupos e suas respectivas regiões de absorção.

Os espectros de infravermelho geralmente são representados em função do número de onda – ou frequência – ν , que é proporcional à energia de transição e inversamente proporcional ao comprimento de onda. Utiliza-se como unidade de ν o inverso do centímetro (cm^{-1}) [42].

Tabela 3.1: Grupos funcionais e suas regiões de absorção no infravermelho [45].

Grupo funcional	Frequência (cm ⁻¹)	Observação
-OH	3600 - 3200	estiramento
-C≡N	2260 - 2200	estiramento
-C=C	2250 - 2040	estiramento
-N-H	1590 - 1500	deformação N-H
-C=O		
Sais ácidos	1610 - 1550	estiramento assimétrico do grupo CO ₂ ⁻
Ésteres	1745 - 1725	estiramento C=O
Amidas	1700 - 1600	estiramento C=O (Amida I)

3.1

Espectroscopia no infravermelho de proteínas

Para localizar e identificar as bandas de absorção das proteínas é necessário estudar a sua estrutura química. As proteínas são formadas por aminoácidos, cuja estrutura geral é apresentada na Figura 3.2. Temos um carbono central ligado a quatro grupos: um grupo amina, um grupo carboxila, um átomo de hidrogênio e a cadeia lateral, representada pela letra R. Esta é característica de cada aminoácido e pode variar em estrutura, tamanho e carga elétrica [46].

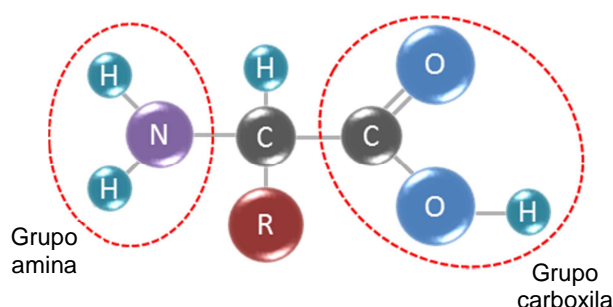


Figura 3.2: Estrutura geral de um aminoácido

Dois aminoácidos podem formar um dipeptídeo através de uma ligação covalente, chamada de ligação peptídica ou ligação amida. A ligação peptídica ocorre entre o grupamento carboxílico de um aminoácido (que perde uma hidroxila) e o grupamento amino de outro (que perde um hidrogênio), com a liberação de uma molécula de água. (Figura 3.3) [46,47]. Os aminoácidos podem se unir deste modo de forma sucessiva, dando origem a uma longa cadeia: o polipeptídeo ou proteína [12].

O grupo amida, que faz parte do esqueleto das proteínas, possui modos normais de vibração denominados modos amida. Neste trabalho, nos concentraremos nos modos Amida I e Amida II. O primeiro é resultado do estiramento C=O e sua banda de absorção aparece em torno de 1650 cm⁻¹. Já o segundo provém da deformação angular fora do plano do grupamento NH com o estiramento CN, dando origem a uma banda de absorção em torno de 1550 cm⁻¹. Ambos os modos são pouco afetados pela natureza das cadeias laterais [42,43,48]. Assim, espera-se encontrar as bandas amida em todas as proteínas; o valor exato da frequência dos

picos depende da sua estrutura secundária, a qual diz respeito à conformação espacial característica de cada proteína [49,50].

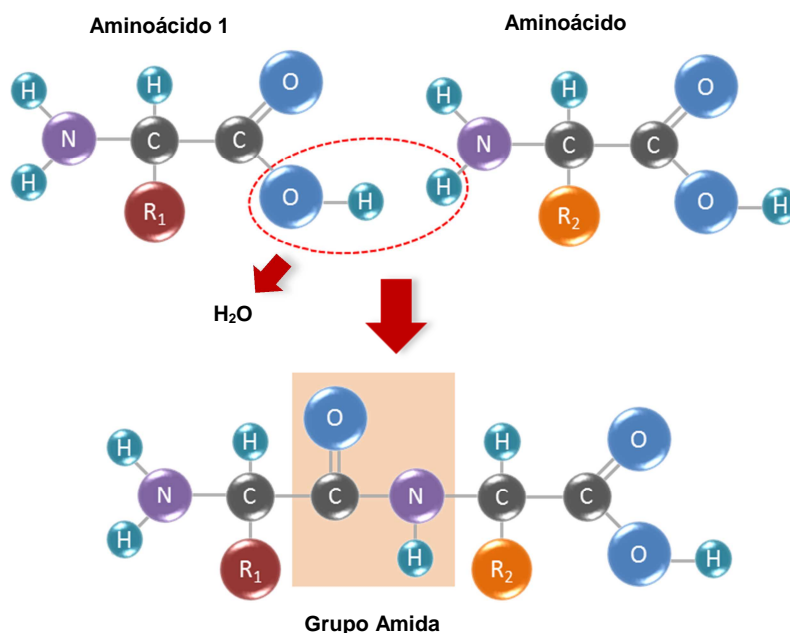


Figura 3.3: Ligação peptídica entre dois aminoácidos – grupo amida no peptídeo [46,47,48]

3.2 Espectrômetro FTIR

Essencialmente, um espectrômetro FTIR (*Fourier Transform Infrared*) consiste em uma fonte de radiação infravermelha (espectro largo), um interferômetro – sendo o de Michelson o mais utilizado – e um detector (Figura 3.4) [45].

A luz da fonte chega ao *beamsplitter* onde é dividida em duas partes aproximadamente iguais: uma é refletida para o espelho fixo e a outra é transmitida para o espelho móvel. O primeiro feixe reflete no espelho fixo seguindo ao *beamsplitter*, onde 50% é transmitido em direção ao detector (setas cheias na Figura 3.4). O segundo feixe também segue de volta para o *beamsplitter* e 50% é refletido em direção ao detector (setas tracejadas na Figura 3.4) [42].

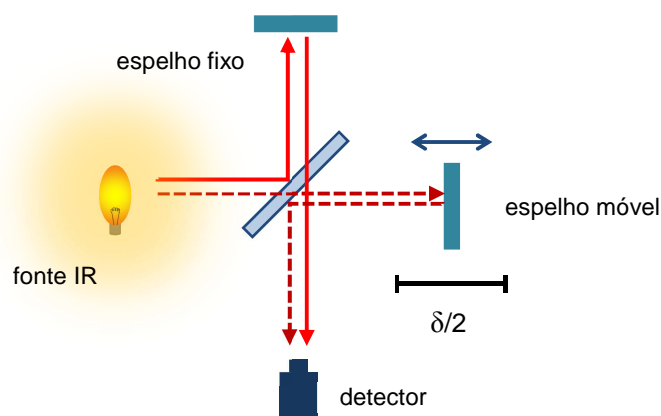


Figura 3.4: Esquema do interferômetro de Michelson.

Quando os dois feixes se recombinam, haverá interferência construtiva ou destrutiva, o que depende da diferença entre os caminhos ópticos que eles percorreram. O equipamento mede a intensidade com o detector em função da posição do espelho móvel, resultando em um interferograma. Um computador conectado ao equipamento faz a transformada de Fourier do sinal medido, convertendo-o em um espectro, denominado *single-beam* (Figura 3.5) [42,45,51].

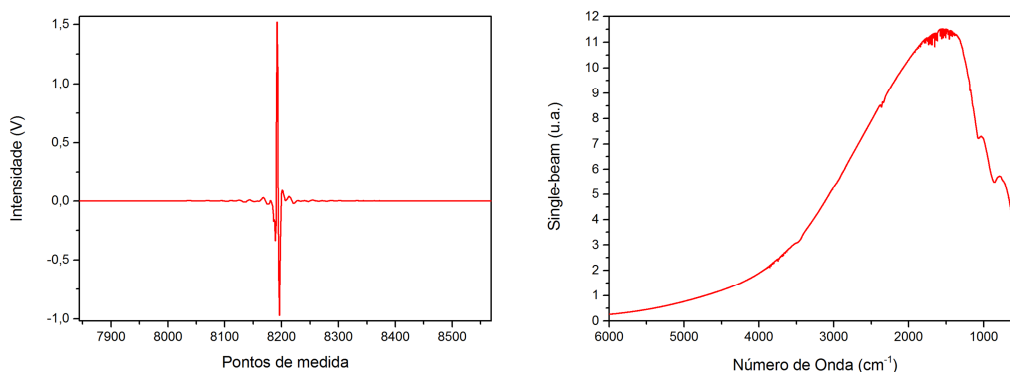


Figura 3.5: Interferograma e o seu espectro obtido por Transformada de Fourier.

O espectro *single-beam* de uma amostra é resultado da superposição das suas bandas de absorção juntamente com as do ar no perfil de emissão da fonte de infravermelho. O espectro do ar é formado pelas bandas de absorção do dióxido de carbono e do vapor d'água presentes no caminho óptico. Para eliminar as contribuições do ar e da fonte, é necessário fazer a aquisição de dois interferogramas: um com a amostra no caminho óptico, gerando o espectro $I(\nu)$, e outro na ausência da amostra, que dá origem ao espectro $I_0(\nu)$. Assim, é possível obter a transmitância T e a absorbância A da amostra, de acordo com a eq. (7) [45].

$$T(\nu) = \frac{I(\nu)}{I_0(\nu)} \rightarrow A = -\log(T) \quad (7)$$

É importante observar que as contribuições do ar só serão totalmente eliminadas dessa forma caso sejam constantes. Mudanças nos níveis de CO_2 e na umidade relativa do ar entre a aquisição de $I_0(\nu)$ e $I(\nu)$ interferem no espectro de absorbância final. Com isso, espectrômetros FTIR geralmente são purgados constantemente com ar seco (livre de CO_2). Cabe mencionar que, ao abrir o compartimento de amostras para realizar uma medição, alteramos os níveis de CO_2 e de vapor d'água, sendo necessário esperar alguns minutos para que a purga seja reestabelecida [45].

Um parâmetro fundamental do instrumento é sua resolução espectral (medida em cm^{-1}). Ela é controlada pelo retardo δ do interferômetro, isto é, pela diferença de caminho óptico entre o espelho fixo e o móvel. Mais precisamente, a resolução espectral é proporcional a $1/\delta$. Assim, resoluções maiores exigem que o espelho móvel percorra uma distância maior, o que aumenta o tempo para obter um interferograma [52,53].

Em relação à aquisição dos dados, existem dois esquemas principais: o *step-scan* e o *continuous-scan*. No primeiro modo, o espelho se move para uma nova posição e permanece parado até o final do tempo de aquisição de um ponto. Isso se repete para todos os pontos do caminho que o espelho percorre. Vale notar que,

nesse caso, o sinal precisa ser modulado por um *chopper* mecânico. Já no segundo esquema, o espelho se move com velocidade constante enquanto é feita a aquisição dos dados. Normalmente, o espelho se movimenta nos dois sentidos e faz-se uma média dos dados em cada ponto, para melhorar a relação sinal-ruído. Por outro lado, no *step-scan* é possível utilizar um amplificador *lock-in* juntamente com o *chopper*, possibilitando maior rejeição de ruído do que os filtros tradicionais. Em contrapartida, o tempo total da medição com *step-scan* geralmente é muito superior [54].

Considerando os detectores, utiliza-se principalmente o DTGS (do inglês, *Deuterated Triglycine Sulfate*) e o MCT. Ambos são capazes de detectar uma ampla faixa do espectro infravermelho. Entre as vantagens do DTGS podemos citar a simplicidade e o baixo custo, além de ser adequado para a maioria das aplicações de espectroscopia FTIR. O MCT possui maior sensibilidade, porém é necessário resfriá-lo com nitrogênio líquido durante as medições [53].

3.3

Lei de Beer-Lambert

A base da análise quantitativa através da espectroscopia no infravermelho é a Lei de Beer-Lambert [45]. Ela relaciona a absorvância A de um componente com a sua concentração C [55].

Na Figura 3.6, temos uma amostra de comprimento L , na qual incide luz de intensidade I_{in} , em $x = 0$. A intensidade de luz transmitida em $x = L$ é dada por I_{tr} . Denomina-se I_x a intensidade que incide no plano de espessura dx e dI a intensidade absorvida por ele.

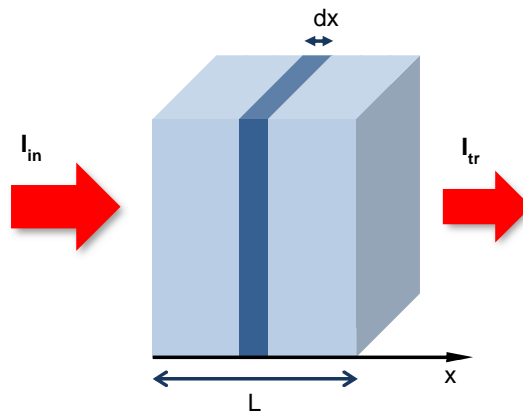


Figura 3.6: Amostra de espessura L de um certo componente iluminada por uma intensidade I_{in} . I_{tr} é a intensidade transmitida

A variação dI é negativa (a intensidade é reduzida pela absorção) e também é proporcional à concentração C do componente e à espessura do plano. Com isso, pode-se escrever [55,56]:

$$dI = -\beta \cdot C \cdot I_x \cdot dx \rightarrow \frac{dI}{I_x} = -\beta \cdot C \cdot dx \quad (8)$$

onde β é uma constante de proporcionalidade. Para obter I_{tr} , integra-se a eq. (8) nos dois lados e, assumindo que a concentração é uniforme em toda a amostra [56], chega-se a:

$$\ln \frac{I_{tr}}{I_{in}} = -\beta \cdot C \cdot L \rightarrow \log \frac{I_{tr}}{I_{in}} = -\varepsilon \cdot C \cdot L \quad (9)$$

O coeficiente de absorção molar ε é função do número de onda ν , assim como as intensidades I_{in} e I_{tr} . Voltando à equação da absorbância (eq. (7)), podemos reescrever a eq. (9), obtendo a Lei de Beer-Lambert [45,56]:

$$A(\nu) = \varepsilon(\nu) \cdot C \cdot L \quad (10)$$

A eq. (10) mostra que a absorbância em uma determinada frequência varia linearmente com a concentração do componente. Outra forma de escrever a Lei de Beer-Lambert é em função das intensidades incidente e transmitida [56]:

$$I_{tr}(\nu) = I_{in}(\nu) e^{-\beta(\nu) \cdot C \cdot L} \quad (11)$$

A partir da eq. (11), nota-se que a intensidade da luz que atravessa a amostra decresce exponencialmente com o aumento da concentração C do componente e da espessura L da amostra.

Para aplicar a Lei de Beer-Lambert na quantificação de um componente de uma solução, é necessário obter $\varepsilon(\nu)$. Isto é feito através da medição da absorbância de uma solução cuja concentração é conhecida. Entretanto, recomenda-se preparar soluções com diferentes concentrações do componente em questão e gerar um gráfico da absorbância na frequência ν em função da concentração. Desta forma, é possível obter o produto $\varepsilon(\nu)L$ com maior exatidão fazendo uma regressão linear. Por outro lado, quando a solução possui mais elementos, é necessário utilizar abordagens matemáticas mais robustas [45].

4

Metodologia

Este capítulo descreve as técnicas experimentais utilizadas para atingir os objetivos propostos. O trabalho seguiu com duas frentes de estudo principais, que transcorreram praticamente em paralelo: a análise das amostras de leite e de caseína e a escolha do fotodetector adequado ao projeto.

A análise das amostras abrange os métodos de preparo utilizados, bem como as medidas de absorção no FTIR. Espera-se estabelecer um procedimento adequado para preparar as amostras e reproduzir resultados conforme a literatura.

A escolha dos detectores compreende definir os requisitos necessários ao projeto, determinar a montagem experimental e as condições apropriadas para as medições e, por fim, simular o dispositivo de fotodetecção da proteína do leite.

O capítulo divide-se em cinco seções com os seguintes temas: preparo das amostras, medidas de absorção no FTIR, escolha do fotodetector, medidas de fotocorrente e simulação do dispositivo. A primeira descreve os métodos de preparo e especifica as amostras feitas. Em seguida, na seção 4.2, indica-se quais medições de absorção foram realizadas, assim como os seus objetivos no trabalho. Na seção 4.3, temos a definição dos requisitos para o fotodetector e as estruturas selecionadas a princípio. Finalmente, descreve-se a montagem experimental das medições de fotocorrente, na seção 4.4 e a simulação do sensor, na seção 4.5.

Os resultados, bem como os detalhes específicos de cada medição, serão apresentados no capítulo 5.

4.1

Preparo das amostras

Inicialmente, foram preparadas amostras de leite líquido e de leite seco, com o intuito de avaliar as diferenças no modo de preparo bem como a qualidade dos resultados produzidos e, assim, escolher o tipo de amostra mais adequado para este trabalho. Utilizou-se leite integral UHT de um mesmo fabricante em todos os preparos.

As amostras líquidas podem ser utilizadas de imediato, isto é, não há necessidade de procedimentos anteriores às medições. Por outro lado, a água – que constitui a maior parte do leite – possui bandas de absorção largas que se sobrepõem às bandas Amida das proteínas. Essa influência deve ser compensada de maneira apropriada [57]. Para isso, pode-se trabalhar com filmes finos: o líquido é colocado em uma célula cuja espessura é da ordem de alguns micrometros, limitando a absorção da amostra.

Seguindo essa ideia, as amostras de leite líquido são colocadas em uma célula adequada da marca ICL - *International Crystal Laboratories* (Figura 4.1). Utilizou-se um espaçador de Teflon com espessura de 25 μm (menor disponível) entre duas janelas de seleneto de zinco (ZnSe). O material das janelas deve ser transparente na região de interesse do infravermelho e não pode ser higroscópico;

o ZnSe atende a ambos os requisitos [58]. Esse conjunto é colocado em um suporte e preso com uma tampa. As janelas de ZnSe possuem furos, por onde o leite pode ser injetado com uma micropipeta. O líquido deve preencher todo o espaço de forma homogênea e, após alguns testes, constatou-se que o volume de 20 μL era suficiente para isso.

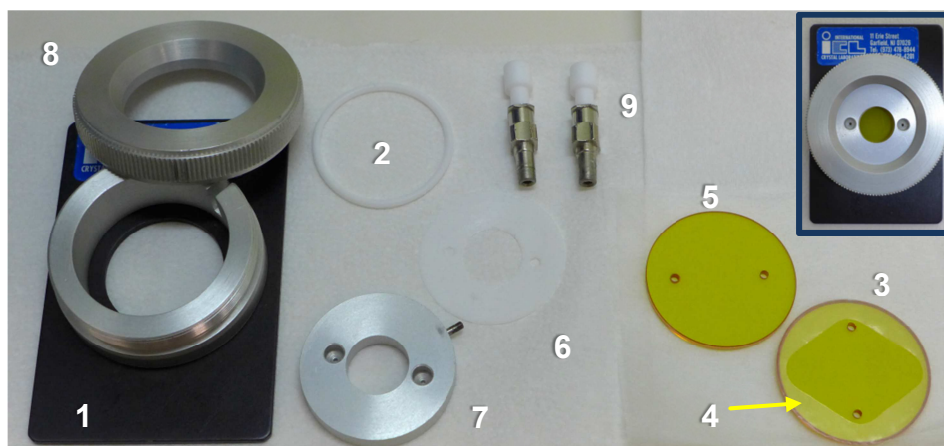


Figura 4.1: Célula SL-2 da ICL para líquidos. A numeração segue a ordem da montagem. 1) suporte. 2) *o-ring*. 3) janela de ZnSe. 4) espaçador de Teflon. 5) janela de ZnSe. 6) disco protetor de teflon. 7) tampa. 8) rosca da tampa. 9) tampões dos furos de entrada de líquido. O detalhe em destaque na direita mostra a célula montada.

Uma outra abordagem para diminuir a influência da água nas medições é realizar um processo prévio de secagem. O procedimento consiste em despejar uma gota de leite em uma janela de ZnSe e esquentá-la a 50 °C por dez minutos em uma placa de aquecimento. A temperatura escolhida foi baseada em estudos realizados em [59], enquanto o tempo de aquecimento foi definido empiricamente. A Figura 4.2 mostra o leite antes e depois do processo de secagem. A janela é colocada, então, em um suporte adequado que pode ser preso na base do compartimento de amostras do FTIR.

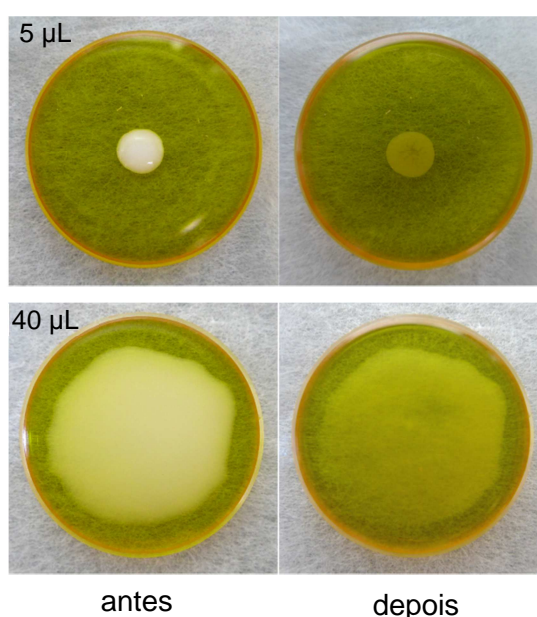


Figura 4.2: Gotas de leite antes e depois do processo de secagem. A gota de 40 μL foi espalhada.

Inicialmente, observou-se que gotas de diâmetro menor – volume de 5 μL – ficavam mais homogêneas após a secagem. Como a absorção e a reprodutibilidade dessas gotas se mostraram ruins, optou-se por outro método: despejar um volume maior (40 μL) e espalhar a gota, cobrindo boa parte da janela. Desta forma, aumenta-se a absorção, dado que a quantidade de leite é maior, e a gota é distribuída de maneira mais uniforme. Esse método foi utilizado em todas as amostras que passaram pelo processo de secagem.

Os resultados que serão apresentados na seção 5.1.1 se mostraram favoráveis às amostras de leite seco e, por esse motivo, optou-se pelo processo de secagem no preparo das amostras seguintes.

Em um segundo momento, amostras de leite também foram adulteradas. As alterações incluem: diluição com água, adição de bicarbonato de sódio (NaHCO_3) e adição de hidróxido de sódio, ou soda cáustica (NaOH).

Uma solução 0,5 M de NaOH (20 g/L) foi preparada para realizar as adulterações. Já o bicarbonato de sódio (pó) foi adicionado diretamente no leite. A Tabela 4.1 resume as soluções feitas. Através de uma fita indicadora de pH, constatou-se que a adição de NaOH e de NaHCO_3 aumentou o pH do leite.

Tabela 4.1: Resumo das soluções de adulteração preparadas

Soluções		Observação
1	NaOH 10% (% v/v)	10% da sol. 0,5 M de NaOH + 90% de leite
2	NaOH 5% (% v/v)	Diluição da solução 1 com leite
3	NaOH 2% (% v/v)	Diluição da solução 1 com leite
4	NaOH 1% (% v/v)	Diluição da solução 1 com leite
5	NaHCO_3 5% (% w/v)	250 mg de NaHCO_3 em 5 ml de leite
6	NaHCO_3 2% (% w/v)	50 mg de NaHCO_3 em 2,5 ml de leite
7	NaHCO_3 1% (% w/v)	50 mg de NaHCO_3 em 5 ml de leite

O pó de caseína (obtido do leite bovino¹) também foi analisado neste trabalho. Inicialmente, foram feitas amostras de caseína em pastilhas de brometo de potássio (KBr) para medições de absorção, realizadas no Departamento de Física da Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF). A confecção das pastilhas consiste em misturar o pó de caseína com o pó de KBr, macerar a mistura em um pilão de ágata e colocá-la em um pastilhador (Figura 4.3). O pastilhador vai para prensa a 10 t por três minutos. A pastilha é colocada em um suporte apropriado para posicioná-la no compartimento de amostras do FTIR. As quantidades utilizadas foram 8 mg para a caseína e 300 mg para o KBr.

Para comparar as medições de caseína com as de leite seco, é necessário preparar as amostras da mesma forma. A caseína deve, então, ser dissolvida e depois passar pelo mesmo processo de secagem do leite. A caseína não dissolve em água e o fabricante recomenda fazer a suspensão do pó em uma solução de NaOH . Com uma solução 0,5 M de NaOH foi possível fazer a suspensão desejada com concentração de 10% de caseína (% w/v). A partir desta, foram feitas diluições com a solução de NaOH , obtendo concentrações de caseína iguais a 5%, 4%, 2,5%, 2% e 1%. Também foram preparadas diluições com água deionizada, obtendo as mesmas concentrações de caseína.

¹ Sigma Aldrich - C5890. Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/c5890>



Figura 4.3: Pilão de ágata e pastilhador

Cabe mencionar que todas as amostras foram preparadas em uma capela, cuja temperatura ambiente mínima medida foi de 18°C e a máxima de 23°C. Não foi feito um controle da temperatura do leite e soluções preparadas; elas foram mantidas à temperatura ambiente da capela e os valores foram registrados com auxílio de um termopar.

Além disso, é importante ressaltar a questão da homogeneidade das amostras após o processo de secagem: as adulteradas com NaOH e NaHCO₃, assim como as de caseína, ficam pouco uniformes. As amostras de leite adulteradas com NaOH apresentaram um aspecto mais turvo e riscos circulares surgiam conforme o aumento da concentração de NaOH. Já as adulteradas com NaHCO₃ se mostraram ásperas e opacas. Além de apresentar riscos circulares, as amostras de caseína ficaram quebradiças (Figura 4.4) e para diminuir esse efeito, foi necessário reduzir o tempo de secagem para cerca de quatro minutos.



Figura 4.4: Amostra de caseína em solução de NaOH após o processo de secagem (4 min.)

Por fim, vale lembrar que, após cada medição, as janelas de ZnSe devem ser propriamente limpas, tanto para as amostras líquidas quanto para as secas. As janelas são apoiadas verticalmente em um suporte de Teflon – adaptado para encostar somente nas bordas das janelas –, mergulhadas em um béquer com água deionizada e detergente neutro e levadas ao ultrassom de 1 a 3 minutos, dependendo da dificuldade de retirar o material depositado. Caso necessário, depois dessa lavagem, manchas e resíduos de material são retirados com o auxílio de um tecido para limpeza de lentes e álcool isopropílico.

4.2

Medições de absorção no FTIR

Como foi visto na seção 3.2, para obter o espectro de uma amostra não é necessária uma montagem externa: após o seu preparo, basta posicioná-la no compartimento de amostras, esperar alguns minutos para estabelecer a purga e coletar o seu interferograma.

A Figura 4.5 mostra um esquema com os principais componentes do espectrômetro FTIR utilizado neste trabalho: o modelo Nicolet 8700 da Thermo Scientific². Nela, podemos ver a disposição dos elementos ópticos para uma medição de absorção utilizando o detector DTGS. O caminho óptico da luz infravermelha também é ilustrado: depois de passar pelo interferômetro, ela segue para o compartimento de amostras, onde é focada, e chega ao detector escolhido.

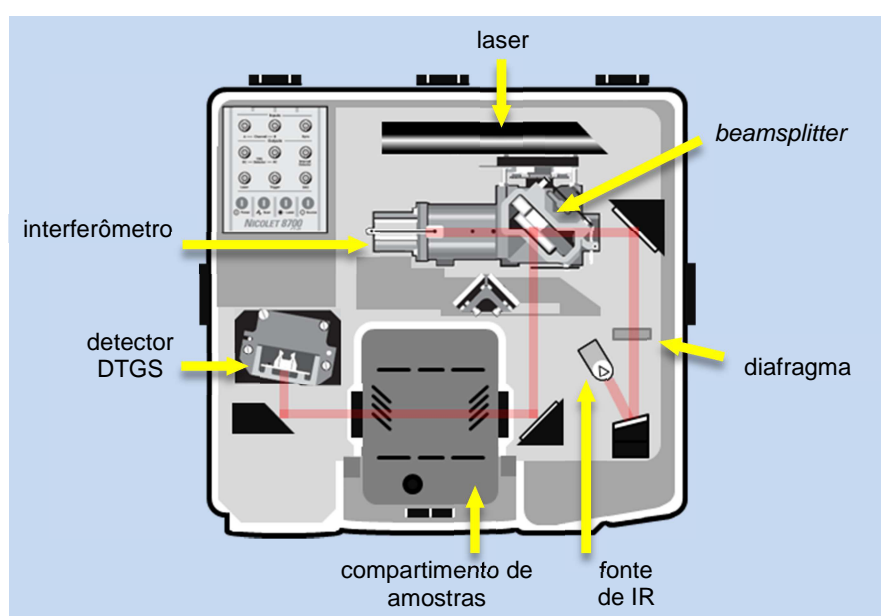


Figura 4.5: Esquema simplificado do FTIR Nicolet 8700 da Thermo Scientific, mostrando o caminho óptico da luz infravermelha.

Os parâmetros das medições são escolhidos via *software* e foram mantidos para todas as medições de absorção realizadas. A Tabela 4.2 resume alguns deles.

Tabela 4.2: Parâmetros das medidas de absorção

Detector	DTGS
Modo de aquisição	<i>Continuous scan</i>
Resolução	2 cm ⁻¹
Abertura do diafragma	30 (máx, = 100)
Número de <i>scans</i>	100
Velocidade do espelho	1,8988 cm/s
Tempo de espera para purga	10 minutos

² A imagem foi feita com base no manual do equipamento.

As medições iniciais de absorção têm como objetivo comparar o desempenho das amostras de leite líquido e de leite seco, além de confirmar se os resultados estão de acordo com a literatura. Para isso, foram preparadas trinta amostras secas e cinquenta líquidas, utilizando leite UHT integral, cujas embalagens foram abertas no mesmo dia em que as medições seriam realizadas.

Vale comentar que os espectros de fundo incluem as janelas de ZnSe: apenas uma janela limpa no caso do leite seco e a célula SL-2 vazia para o leite líquido. O espectro de fundo com a célula SL-2 pode ser usado para calcular a distância entre as janelas e confirmar se está de acordo com a espessura nominal do espaçador de Teflon. Isso é feito através da análise das franjas de interferência que surgem no espectro [60,61].

Dado que temos duas janelas com um espaço vazio (ar) entre elas, a luz que incide no conjunto reflete diversas vezes entre as superfícies paralelas das janelas (Figura 4.6). Dessa forma, ela sofre interferência construtiva ou destrutiva, dependendo da razão entre o caminho óptico e o comprimento de onda da luz. Como a diferença entre o índice de refração da janela de ZnSe e do ar é grande, as franjas são mais proeminentes. Ao preencher a célula com líquido, essa diferença diminui e há redução das franjas de interferência [61,62].

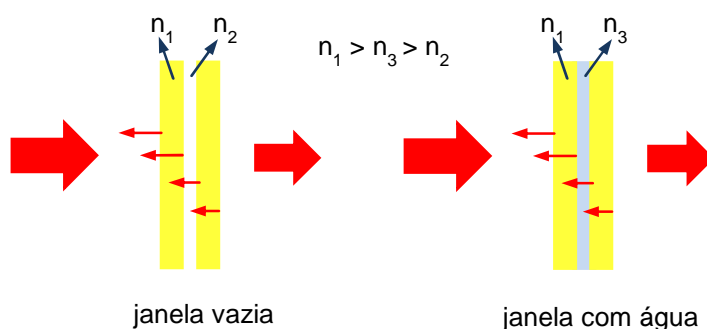


Figura 4.6: Esquema de interferência em uma célula para líquidos - a luz incidente é refletida diversas vezes

O procedimento para determinar o espaçamento entre as janelas é simples: no espectro *single-beam* da célula vazia, mede-se a distância entre n picos ou vales no eixo da frequência (tipicamente, $n > 10$). Utiliza-se a eq. (12) para encontrar a distância d , onde ν_1 e ν_2 são as frequências das franjas nos extremos do intervalo escolhido [61,62]. Esse método foi aplicado nos espectros com a célula SL-2 vazia e os resultados serão apresentados no capítulo seguinte.

$$d = \frac{10n}{2(\nu_2 - \nu_1)} \quad (12)$$

Em um segundo momento, fez-se uma comparação entre leite UHT integral, semidesnatado e desnatado (todos do mesmo fabricante), utilizando amostras preparadas com o processo de secagem descrito na seção anterior.

Posteriormente, foram feitas as medições de absorção das amostras de leite adulterado, comparando concentrações diferentes de cada adulterante. O objetivo dessas medições é avaliar se as alterações feitas modificam o espectro do leite, principalmente na região das bandas Amida I e II. Modificações relevantes nessa região indicam a possibilidade de detectá-las com o sistema proposto.

Em paralelo, foram realizadas medições de amostras de caseína que passaram pelo processo de secagem, também avaliando os resultados para concentrações distintas. Como representa boa parte das proteínas presentes no leite, a caseína pode ser usada para calibrar o dispositivo de fotodetecção, pois é possível preparar soluções de concentração conhecida. Para isso, deve-se analisar a qualidade dos espectros resultantes desse tipo de amostra e compará-los com os do leite.

Como mencionado na seção 4.1, pastilhas de KBr e pó de caseína foram preparadas na UFJF. As medições de absorção dessas amostras foram realizadas em um outro espectrômetro: o modelo Vertex 70 da Bruker (resolução de 2 cm^{-1}).

4.3 Escolha dos fotodetectores

Para a aplicação proposta neste trabalho, um fotodetector deve atender a dois requisitos principais: compatibilidade da sua faixa de detecção com as bandas de absorção da proteína do leite e seletividade. Em outras palavras, o pico de fotocorrente deve estar na mesma região espectral que os picos de absorção da proteína e ele deve ser fino o suficiente para que não sofra influência de bandas de absorção adjacentes. A **Error! Reference source not found.** exemplifica essa ideia.

Outro requisito importante é a temperatura de operação. Esta deve ser maior ou igual à temperatura do nitrogênio líquido (77 K), dado que, para se trabalhar a temperaturas, menores são necessários sistemas de resfriamento mais complexos. Isso pode inviabilizar o transporte do sistema como um todo e o instrumento de medição final não seria portátil.

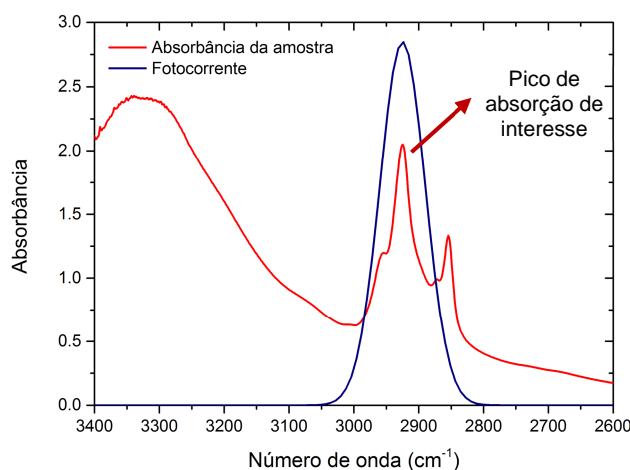


Figura 4.7: Exemplo de fotocorrente adequada para detectar um determinado pico de absorção

É desejável, também, que o fotodetector possua um alto nível de corrente, bem como baixo ruído, para diminuir a complexidade dos mecanismos de amplificação.

Com base em resultados de estudos anteriores a este trabalho [63,64,65], fez-se uma seleção de detectores cujos picos de fotocorrente estavam na região de interesse. O espectro da fotocorrente foi obtido para cada um deles e os resultados preliminares se mostraram satisfatórios para dois QDIPs. Assim, as medidas apre-

sentadas neste trabalho são referentes apenas a esses dois detectores, os quais serão comparados em relação a cada requisito mencionado.

As estruturas dos QDIPs podem ser vistas na Figura 4.8 (detector A [64]) e na Figura 4.9 (detector B [63]), bem como os perfis da banda de condução. Ambos são fotodetectores baseados em pontos quânticos acoplados a um poço quântico, com pontos crescidos pelo método de Stranski-Krastanow.

A camada de pontos quânticos no detector A foi crescida dentro de um poço parabólico, o qual foi feito com um quartenário (InGaAlAs), variando as concentrações dos elementos. A estrutura foi crescida em um substrato de InP. Para garantir a qualidade da superfície, uma camada de 150 nm de InP foi crescida sobre o substrato. Entre as camadas de contato elétrico, temos a região ativa, repetida dez vezes. Ela é constituída por uma camada do quartenário InGaAlAs, seguida da metade do poço parabólico decrescente, os pontos quânticos de InAs cobertos com InP e a outra metade do poço parabólico. A camada inicial de quartenário tem a função de desacoplar os pontos quânticos das camadas subsequentes.

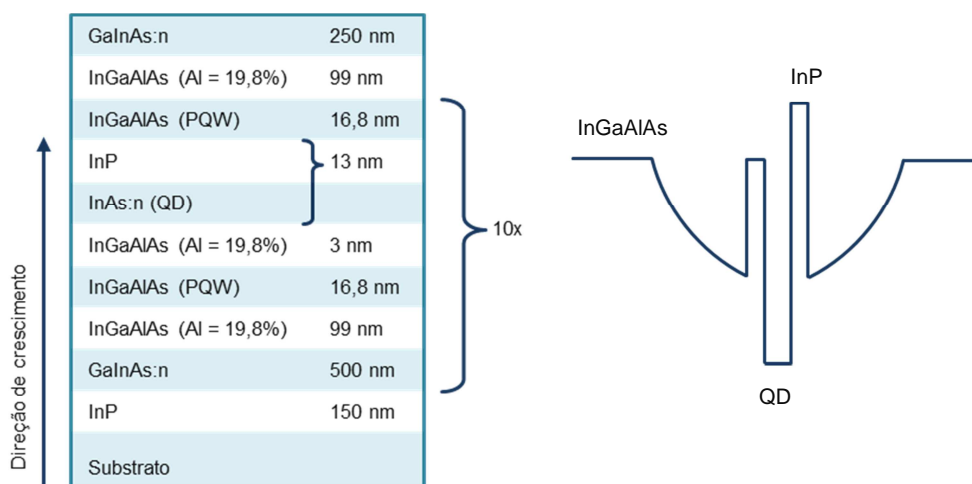


Figura 4.8: Estrutura e banda de condução - Fotodetector A [64]

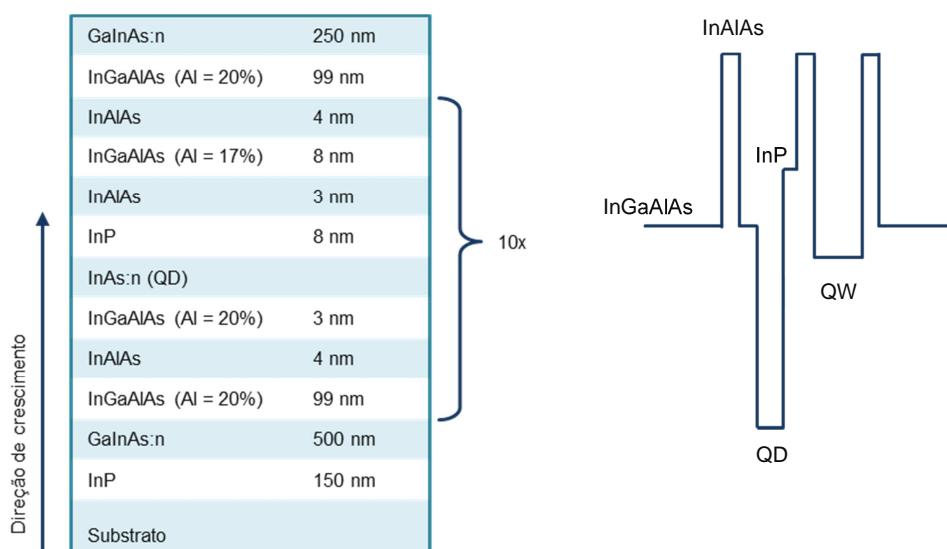


Figura 4.9: Estrutura e banda de condução - Fotodetector B [63]

As primeiras três camadas e as duas últimas do detector B são iguais às do detector A. No lugar do poço parabólico temos uma barreira de InAlAs seguida por uma camada de InGaAlAs sobre a qual os pontos quânticos são crescidos. Eles também são de InAs cobertos por InP. Temos, por fim, um poço quântico de InGaAs com barreiras de InAlAs.

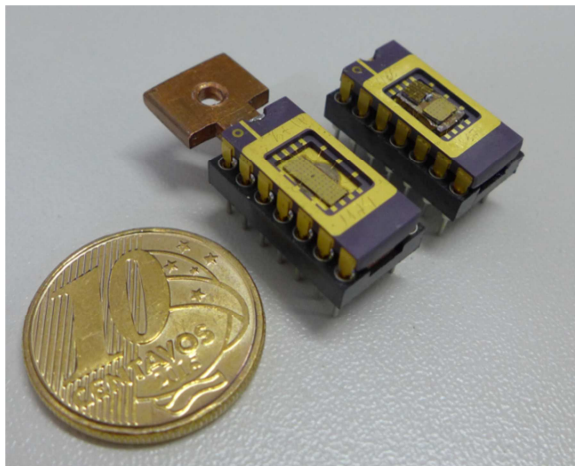


Figura 4.10: Fotodetector A (direita) e Fotodetector B (esquerda), já montados nos *chips*.

4.4 Medições de fotocorrente no FTIR

Além das medições de absorção, o FTIR pode ser utilizado para obter o espectro da fotocorrente dos detectores selecionados. O modelo Nicolet 8700 da Thermo Scientific permite o uso de detectores externos ao equipamento: o feixe de infravermelho pode ser direcionado para fora, deixando de passar pelo compartimento de amostras; o detector externo é conectado ao instrumento via cabo BNC (Figura 4.11).

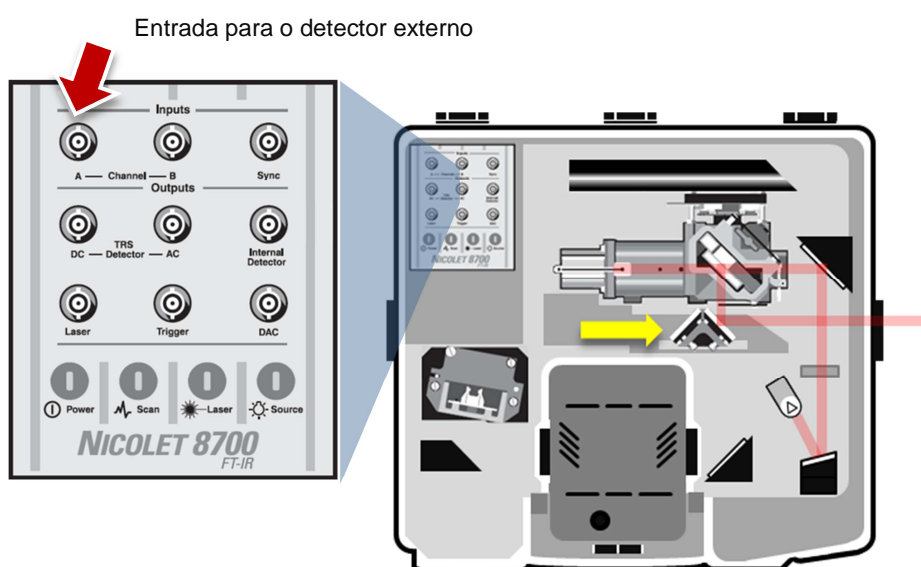


Figura 4.11: Esquema do FTIR com o feixe de IR direcionado para fora do equipamento. O espelho indicado pela seta amarela impede que o feixe siga para o compartimento de amostras.

Baseado em estudos realizados anteriormente [63,64], sabe-se que os fotodetectores a serem testados não operam à temperatura ambiente e devem ser resfriados. Conforme foi apontado na seção anterior, a temperatura de operação deve ser no mínimo de 77 K e, por esta razão, os detectores foram colocados em um criostato de nitrogênio líquido.

O resultado de medições preliminares mostrou que não seria possível trabalhar com o modo de aquisição de *continuous scan* por causa do nível de ruído do sistema como um todo, incluindo a rede elétrica. Com isso, foi necessário utilizar o modo de *step-scan* com um amplificador *lock-in*, visando aumentar a rejeição de ruído.

A montagem ainda exige um *chopper*, um controlador de temperatura para o criostato, um amplificador de transimpedância para os fotodetectores e uma lente para focar o feixe de infravermelho do FTIR. A Figura 4.12 ilustra a montagem completa. Uma janela de ZnSe foi posicionada o mais próximo possível do criostato, para que os espectros incluam a sua influência. Isso será necessário para a série de medições descritas mais adiante.

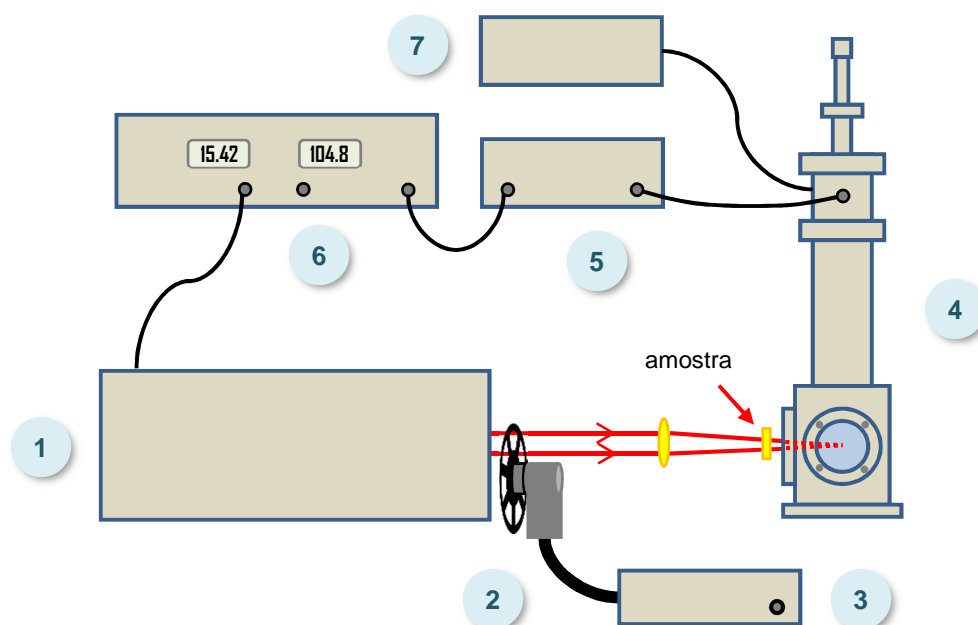


Figura 4.12: Montagem para a medição de fotocorrente. 1) FTIR. 2) *chopper*. 3) controlador do *chopper*. 4) criostato. 5) amplificador de transimpedância. 6) *lock-in*. 7) controlador de temperatura

É importante comentar que, antes de qualquer medição, é necessário alinhar o sistema, focando o feixe no detector. Ajusta-se a posição da lente para que a tensão mostrada no visor do *lock-in* seja a maior e a mais estável possível. Nesse momento, também são determinados os parâmetros dos amplificadores, como fator de amplificação e constante de tempo de integração.

Primeiramente, foram obtidos espectros *single-beam* de fotocorrente dos detectores A e B, apenas com o intuito de verificar o seu funcionamento e estabelecer as melhores condições de medição. Essas condições incluem os parâmetros dos amplificadores, a tensão de polarização dos fotodetectores, o compromisso entre resolução e tempo de medição, entre outros.

Nas medições com o fotodetector B, foi necessário utilizar um filtro de InAs para eliminar os comprimentos de onda do infravermelho, que geram transições

interbanda. Isso se deve à limitação da amplificação imposta pela corrente de escuro do detector, que é relativamente alta para a temperatura de 77 K [63]. Como há interesse apenas na fotocorrente devida a transições intrabanda, pode-se eliminar esses comprimentos de onda, diminuindo a potência da luz que chega ao detector. Assim é possível aumentar o fator de amplificação.

Com base nos resultados iniciais, passou-se para a segunda fase de medições de fotocorrente, que consiste em colocar amostras de leite seco no caminho óptico, obter o espectro *single-beam* e comparar com as medidas anteriores. Entende-se aqui a necessidade de ter incluído a influência da janela de ZnSe nas medições de fotocorrente sem amostras. Como não havia espaço físico para posicionar uma segunda lente que focasse na amostra de leite, ela foi presa o mais próximo possível do criostato. A lente utilizada possui distância focal de 12,7 cm e a amostra ficou a 5 cm do foco.

4.5

Simulação do dispositivo de fotodetecção da proteína do leite

A última etapa do trabalho envolve um experimento de simulação do dispositivo utilizando os fotodetectores testados. O mecanismo de detecção baseia-se na variação da intensidade de fotocorrente devido à presença da substância de interesse. Sabe-se, pela Lei de Beer-Lambert, que a absorbância de uma amostra aumenta com a sua concentração. Assim, quanto maior a concentração da substância, menor será a intensidade da luz que chegará ao detector e, consequentemente, menor será a fotocorrente gerada.

Como visto na seção 3.3, a quantificação de elementos através da espectroscopia de infravermelho tem como base esse mesmo princípio. Porém, a técnica analisa a absorbância das amostras, utilizando um detector que abrange uma ampla faixa do infravermelho. Se o fotodetector atender aos requisitos principais da seção 4.3, a intensidade de fotocorrente em ampères será influenciada apenas pelo pico de absorção da proteína. Assim, para quantificá-la, não é necessário obter um espectro, basta analisar a variação da intensidade da fotocorrente.

A montagem escolhida para a simulação permanece igual à anterior, com exceção do filtro de InAs, que agora está presente para as medições com ambos os detectores. Dessa forma, garante-se que a intensidade de fotocorrente é devida apenas às transições intrabanda, na região de interesse do espectro. Nesse experimento, o FTIR funciona apenas como fonte de infravermelho, já que o objetivo é medir a intensidade de sinal dada pelo *lock-in*.

Essas intensidades foram obtidas em função da concentração de leite, para amostras diluídas com água deionizada. O mesmo foi feito para as amostras de caseína diluídas em NaOH e água deionizada. As amostras adulteradas foram comparadas com as de leite puro.

Para registrar os valores com maior facilidade, foi necessário aumentar a constante de tempo de integração do *lock-in* para 10 s. Com isso, é preciso esperar de três a quatro vezes esse tempo, para garantir a estabilização do sinal.

5 Resultados e discussões

Os resultados serão apresentados de acordo com a ordem das seções do capítulo 4. Primeiramente, temos as medidas de absorção, divididas em quatro subseções com os seguintes temas: comparação das amostras de leite seco e líquido, relação entre leite integral, semidesnatado e desnatado, adulterações do leite e espectros da caseína.

Logo depois, as medidas de fotocorrente para os detectores A e B são apresentadas, bem como uma avaliação dos pontos positivos e negativos de cada um. A simulação do dispositivo vem em seguida, concluindo as etapas descritas no capítulo anterior.

Finalmente, propõe-se uma estrutura de fotodetector, baseada nos resultados obtidos para os detectores A e B.

5.1 Medidas de absorção no FTIR

5.1.1 Comparação das amostras de leite seco e líquido

A Figura 5.1 mostra o resultado da média de trinta espectros de amostras diferentes de leite integral seco, preparadas pelo processo descrito na seção 4.1. Apresenta-se, também, a identificação dos picos de cada componente do leite, conforme indicado pela literatura. Os valores encontrados para cada pico de absorbância estão de acordo com dados de outros trabalhos [59].

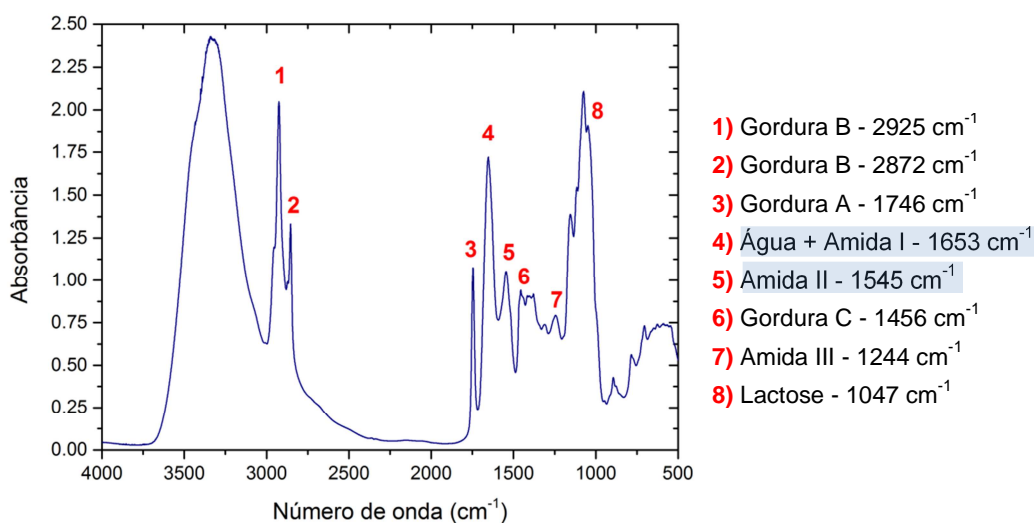


Figura 5.1: Espectro de absorção do leite - média de 30 amostras de 40 µL de leite seco. Picos identificados de acordo com [59]. Destaque para as bandas Amida I e II.

A lactose absorve em 1047 cm^{-1} , enquanto os lipídios se dividem em três regiões de absorção: Gorduras A, B e C. Como foi visto na seção 3.1, as bandas Amida são referentes às proteínas. Concentraremos o interesse nas bandas Amida I e II por apresentarem maior absorbância. Vale notar que a absorção da água se sobrepõe à banda Amida I. A água também é responsável pelo pico mais largo na região entre 3750 cm^{-1} e 3000 cm^{-1} (estiramento O-H) [59].

Os espectros das trinta amostras preparadas podem ser vistos na Figura 5.2, bem como o resultado da correção de espalhamento. Essa correção foi feita utilizando o pacote *PLS Toolbox*³ para Matlab, através do algoritmo *Extended Multiplicative Scatter Correction* (EMSC). O *software* fornece diversas ferramentas para o processamento de espectros, incluindo correções de espalhamento e de linha de base. Detalhes sobre o algoritmo EMSC podem ser encontrados em [66].

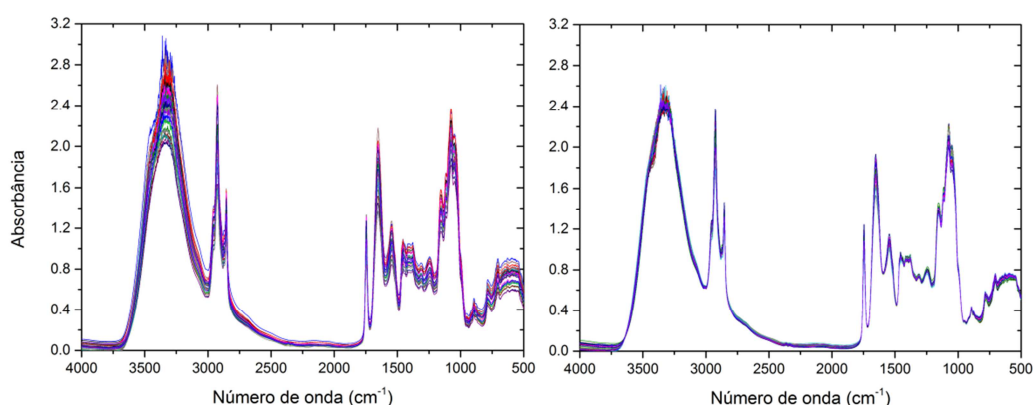


Figura 5.2: Espectros de 30 amostras de leite seco, antes (esquerda) e depois (direita) da correção de espalhamento via *software*.

Como se tratam de amostras de um mesmo leite, preparadas da mesma forma, idealmente as intensidades dos picos seriam iguais. Observando o gráfico da esquerda na Figura 5.2, nota-se que há variações nas curvas: na região das bandas Amida I e II, a incerteza foi de $\pm 10\%$. Acredita-se que uma das principais razões para a variação de intensidade é a falta de controle sobre a espessura e homogeneidade da amostra no processo de secagem. Apesar de parecerem uniformes em boa parte da superfície, elas sempre apresentam uma região com rachadura, mais irregular do que as bordas. Ao perder água no processo de secagem, a gota de leite diminui o seu diâmetro até desaparecer. Nesse momento forma-se uma rachadura.

A irregularidade da superfície pode ser confirmada através da medição de absorção de uma mesma amostra em pontos distintos; escolheu-se um ponto no centro e outro na borda. Em algumas amostras, a variação entre os resultados foi desprezível enquanto em outras se mostrou relevante.

Após a correção dos espectros, nota-se que as curvas estão mais próximas umas das outras: a incerteza na região de interesse caiu para $\pm 3\%$. Isso mostra que é possível obter resultados melhores aperfeiçoando o processo de secagem. Foi observado que a temperatura da placa de aquecimento utilizada varia com a posição e com o tempo, o que pode contribuir para a secagem irregular e representa um aspecto a ser aprimorado.

³ Versão *demo* disponível para estudantes no site: <http://www.eigenvector.com/index.htm>

Os resultados obtidos para as cinquenta amostras líquidas, bem como a sua correção de espalhamento (EMSC), podem ser vistos na Figura 5.3. Primeiramente, observa-se que não é possível identificar os picos de absorção característicos do leite como nas amostras secas. Isso ocorre porque a influência da água é considerável, conforme mostra a Figura 5.4. É possível notar a semelhança entre a absorbância média das amostras de leite líquido e a absorbância da água deionizada, obtida nas mesmas condições que as do leite.

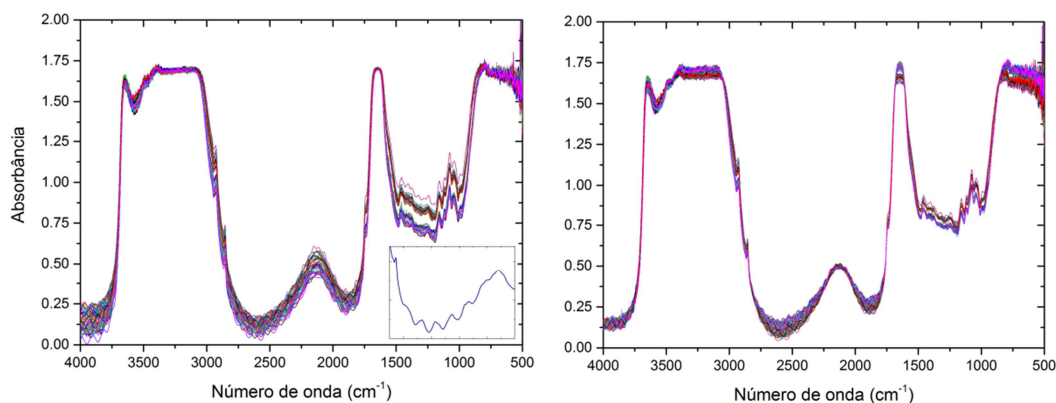


Figura 5.3: Espectros das 50 amostras de leite líquido, antes (esquerda) e depois (direita) da correção de espalhamento via *software*. Detalhe mostra uma das curvas na região entre 3000 cm^{-1} e 2000 cm^{-1} .

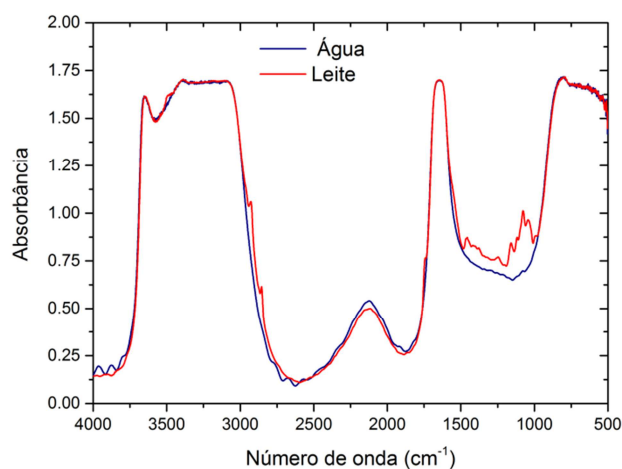


Figura 5.4: Comparação da absorbância do leite (média das 50 amostras) e da água.

Para remover essa influência, foi feita a subtração das absorbâncias, chegando a um espectro cujos picos são mais parecidos com os encontrados anteriormente (**Error! Reference source not found.**). Nota-se que a banda Amida I, sobreposta pela absorção da água, praticamente desapareceu, dificultando a sua identificação. Também é possível ver franjas de interferência na região central do gráfico. As franjas também podem ser vistas no detalhe da Figura 5.3.

Conforme visto na seção 4.2, as franjas de interferência do espectro de fundo foram utilizadas para calcular a distância entre as janelas. Espectros distintos resultaram em espaçamentos distintos, o que significa que, mesmo utilizando um mesmo espaçador, não é possível garantir o caminho óptico entre as janelas. Uma possível razão para isso é a própria estrutura da célula, que utiliza uma

tampa de rosca para prender as diversas partes. A variação do quanto se aperta a tampa pode refletir no espaçamento final entre as janelas. Além disso, notou-se que, em média, a distância calculada foi de 35 μm , 10 μm acima do esperado.

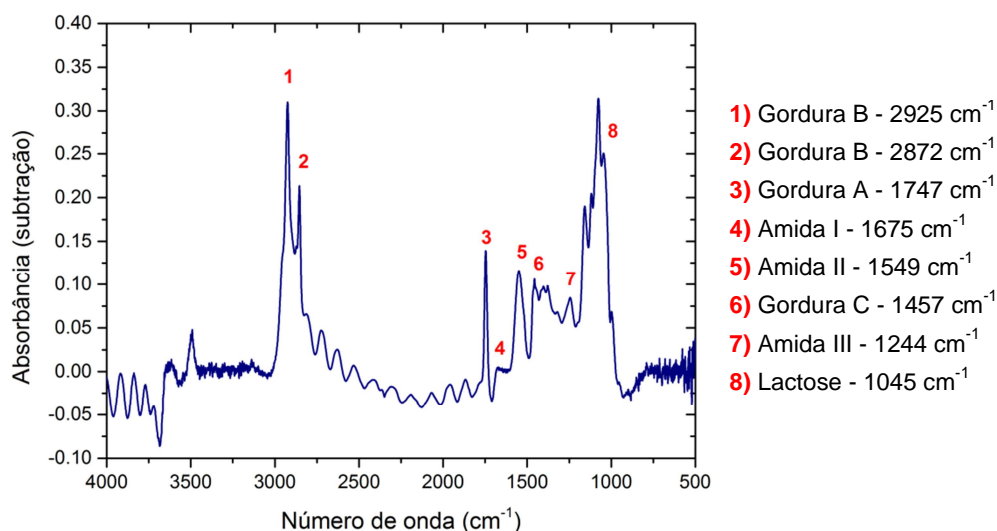


Figura 5.5: Espectro do leite líquido após subtração da absorbância da água.

Cabe lembrar que, para se chegar à absorbância das amostras de leite líquido, é preciso dividir o espectro *single-beam* pelo espectro de fundo (eq. (7), na seção 3.2). Porém, as franjas de interferência da curva de fundo mascararam os picos de interesse e, portanto, precisam ser removidas.

Experimentalmente, para reduzir o efeito de interferência, pode-se escolher um material para as janelas com menor índice de refração ou virar a célula de forma que os raios refletidos internamente não cheguem ao detector [62]. Como não foi possível aplicar esses métodos, foi necessário remover as franjas de interferência digitalmente.

Diversos métodos indicados na literatura, como deconvolução, filtragem e algoritmos específicos [62,67], foram utilizados na tentativa de eliminar as franjas de interferência, mas apenas um se mostrou efetivo. Esse procedimento consiste na edição do interferograma, removendo os picos secundários que aparecem devido à interferência. Isso pode ser feito no próprio software do FTIR: os picos secundários são excluídos do interferograma, que é reprocessado em um novo espectro *single-beam* (Figura 5.6).

Apesar do método de edição ter se mostrado eficaz no espectro de fundo, vimos anteriormente (Figura 5.3 e **Error! Reference source not found.**) que os espectros finais de absorbância também possuem franjas de interferência. Na verdade, ao adicionar líquido entre as janelas, as franjas são suprimidas, mas não desaparecem, pois a diferença entre o índice de refração do ZnSe e o do leite ainda é grande. Como os picos secundários não são facilmente identificados nos interferogramas do leite líquido, não é possível removê-los.

O erro percentual entre amostras de leite líquido sem correção de espectro foi menor: $\pm 4\%$, na região de interesse. Apesar disso, outros fatores importantes se mostraram desfavoráveis. As bandas Amida I e II são mascaradas pela absorção da água e só podem ser vistas após a subtração realizada na **Error! Reference source not found.** Como se deseja analisar apenas as intensidades de sinal do detector, os picos devem aparecer de forma clara, sem a necessidade de processamento digital. Caso contrário, não será possível detectá-los da maneira

proposta. Além disso, a questão das franjas de interferência não foi totalmente resolvida.

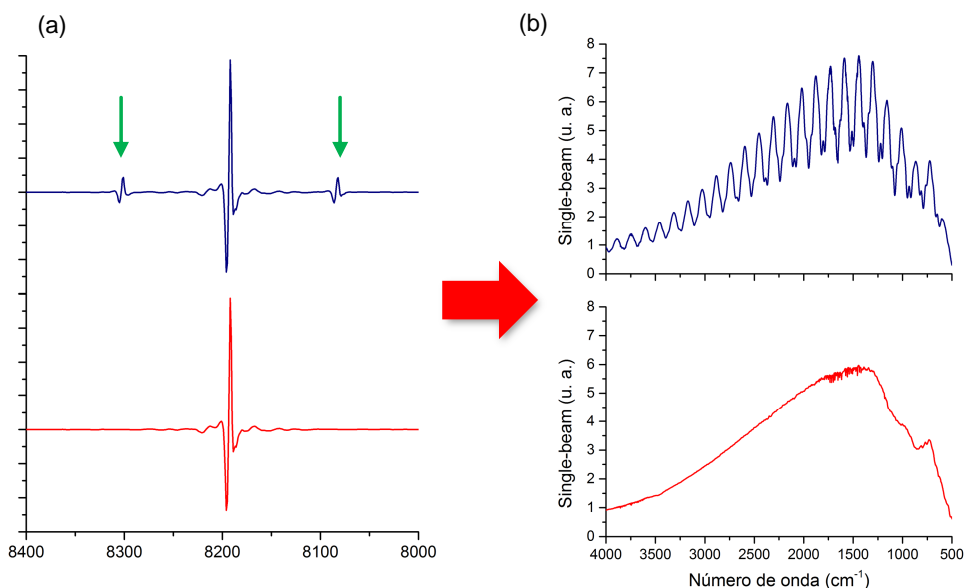


Figura 5.6: Eliminação das franjas de interferência - Interferogramas (a) e seus respectivos espectros (b). As setas verdes indicam os picos secundários removidos.

No que diz respeito ao tempo de preparo, conclui-se que há equivalência nos dois tipos de amostra. Para cada amostra a ser preparada, a célula para líquidos necessita ser desmontada e seus componentes, limpos. Isso aumenta consideravelmente o tempo de preparo das amostras líquidas, que se torna comparável ao tempo de secagem.

5.1.2 Leite integral, semidesnatado e desnatado

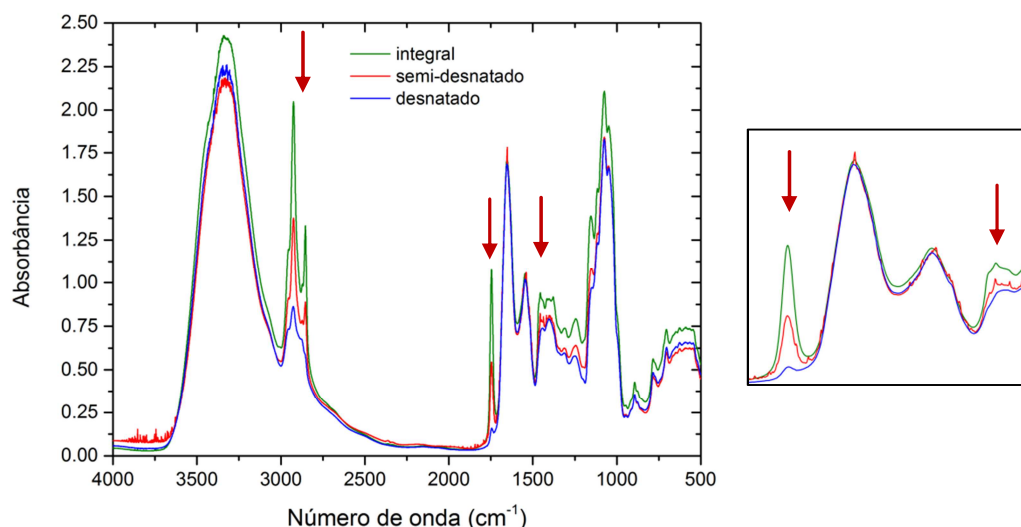


Figura 5.7: Comparação entre leite integral, semidesnatado e desnatado. As setas indicam os picos relativos aos lipídios. O destaque mostra os picos de gordura A e C, em torno das bandas Amida.

Na Figura 5.7, pode-se ver os espectros de leite UHT integral, semidesnatado e desnatado. As setas vermelhas indicam os picos relativos aos lipídios (Gorduras A, B, e C) e nota-se que todos sofrem alterações significativas, como esperado.

O detalhe da Figura 5.7 mostra os picos Gordura A e C em torno das bandas Amida I e II. Vale comentar que as quantidades de proteína fornecidas pelo fabricante são iguais para os três tipos de leite. Essa relação também aparece nas bandas Amida I e II, que estão sobrepostas nas três curvas.

A comparação destes espectros confirma a relação entre as bandas de absorção características dos lipídios e a quantidade de gordura presente no leite.

5.1.3 Adultrações do leite

De acordo com a seção 4.1, foram preparadas diferentes adultrações: diluição com água deionizada e adição de hidróxido de sódio e bicarbonato de sódio. A primeira apresenta-se apenas como uma variação na intensidade de todos os picos, como mostra o exemplo da Figura 5.8. Isso é esperado, pois a concentração de todos os componentes do leite é alterada de forma equivalente.

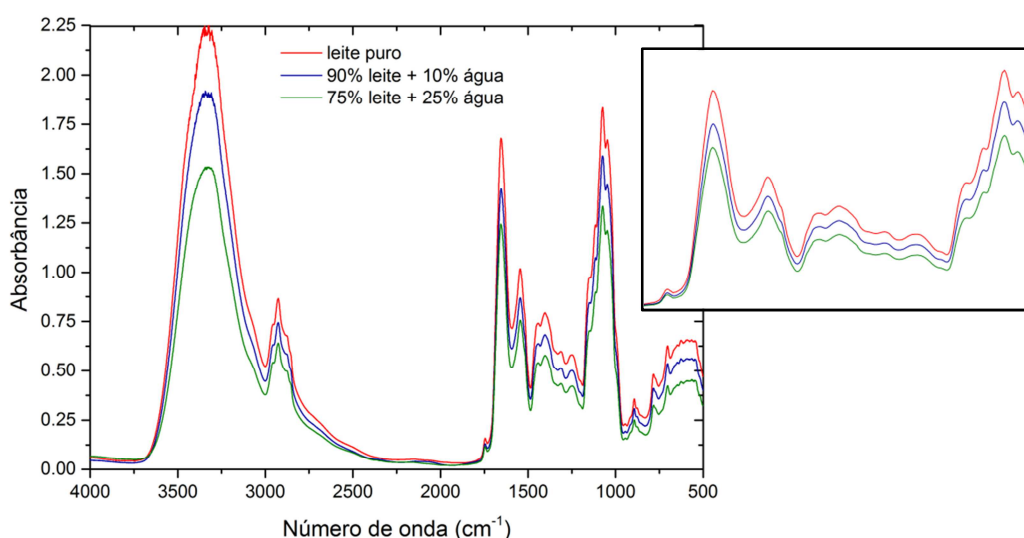


Figura 5.8: Leite desnatado puro e diluições com água - 10% e 25%. Detalhe evidencia diferenças de intensidade em cada pico.

Já nos outros casos, os espectros do adulterante puro são comparados com os do leite adulterado, com o intuito de identificar semelhanças entre os dois. O espectro da Figura 5.9 foi obtido de uma amostra da solução de NaOH 0,5 M, preparada pelo processo de secagem. Ele apresentou inclinação da linha de base – crescente com o número de onda –, a qual foi corrigida com o pacote *PLS Toolbox*. Esse efeito é tipicamente resultante do espalhamento da luz incidente, devido a irregularidades na amostra e ao tamanho das partículas [68]. Observa-se a presença de picos próximos às bandas de absorção do leite, o que pode ser indicativo de alterações.

Na Figura 5.10, pode-se comparar o espectro do leite puro e os adulterados com 10%, 5% e 2% de solução de NaOH. Não foram percebidas variações com 1% da solução adulterante e também não foram observadas inclinações de linha

de base como no espectro de NaOH puro. De maneira geral, percebe-se um aumento da intensidade dos picos em todo o espectro, conforme se acrescenta NaOH no leite. Também é possível ver uma alteração no formato do pico da banda Amida II (seta na Figura 5.10). Por outro lado, os picos característicos do NaOH não foram identificados. Isso pode ocorrer caso o NaOH sofra reação com elementos do leite ou a quantidade de NaOH seja pequena frente aos outros componentes. No caso da adulteração com 10%, temos 4 μL da amostra correspondentes à solução adulterante, o que dá 0,08 mg de NaOH.

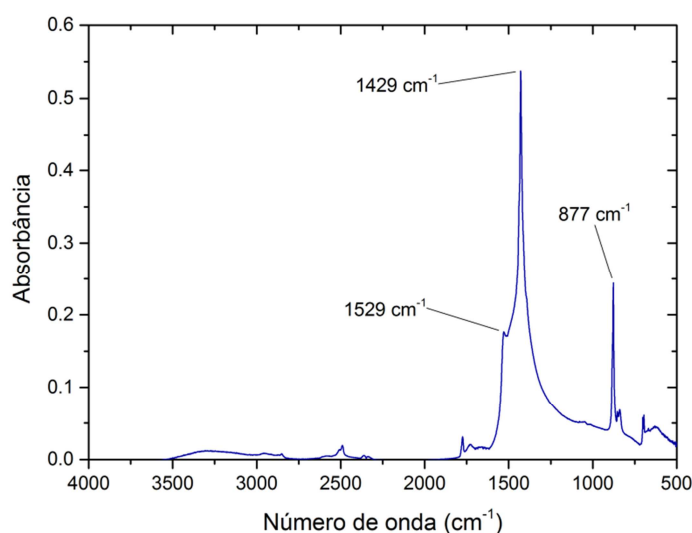


Figura 5.9: Absorbância do NaOH em solução 0,5 M (linha de base corrigida) - amostra passou pelo processo de secagem.

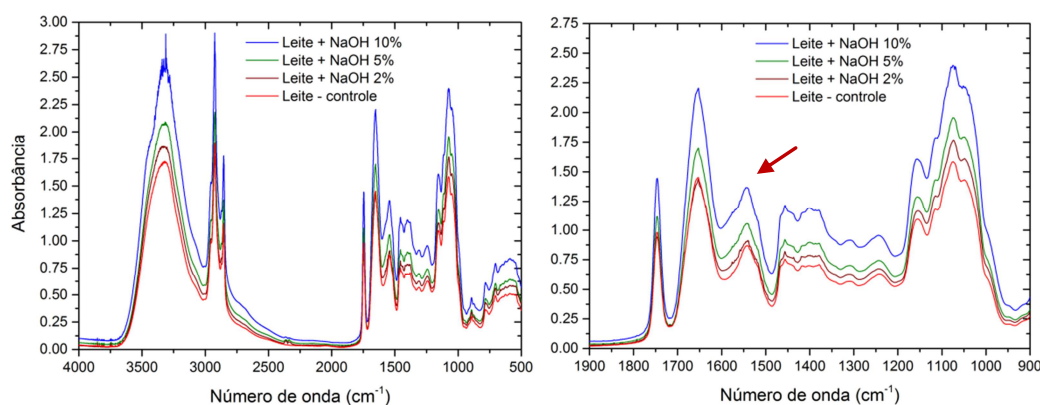


Figura 5.10: Espectros do leite adulterado com solução 0,5 M de NaOH (10%, 5% e 2%).

O espectro de absorção do bicarbonato de sódio (Figura 5.11 (a)) foi retirado da base de dados do Instituto Nacional de Padrões e Tecnologia (*National Institute of Standards and Technology* - NIST) [69]. Na Figura 5.11 (b) encontram-se os espectros do leite adulterado com bicarbonato de sódio em concentrações diferentes. Para facilitar a visualização, os gráficos possuem a mesma escala horizontal. Ao contrário das amostras com NaOH, nota-se o surgimento de picos de absorção característicos do bicarbonato: eles crescem com a concentração do adulterante. Cabe mencionar que o volume de 40 μL de amostra adulterada possui de 0,4 mg (1%) a 2,0 mg (5%) de NaHCO_3 , quantidades maiores do que as de NaOH estudadas.

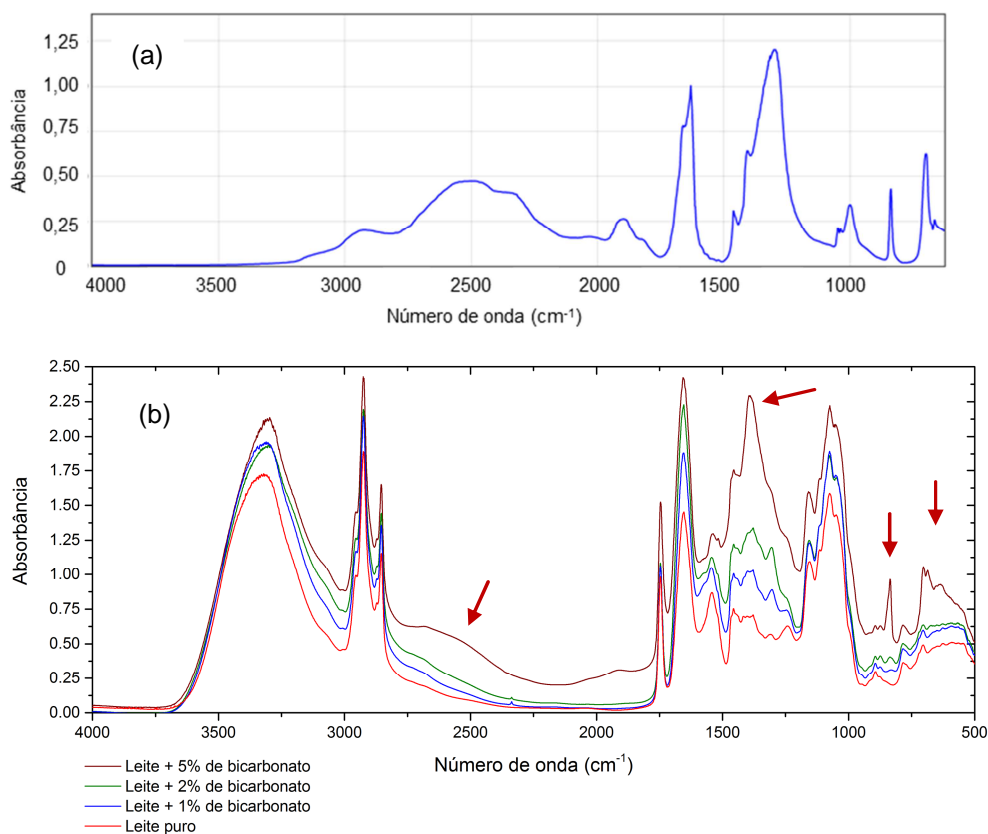


Figura 5.11: (a) Espectro do bicarbonato de sódio [69]. (b) Espectro das amostras de leite adulteradas com bicarbonato; as setas indicam alguns picos do bicarbonato. As escalas horizontais dos gráficos são iguais.

Na Figura 5.12, observa-se com maior detalhe a região entre 1900 cm⁻¹ e 900 cm⁻¹ dos espectros adulterados com bicarbonato de sódio. Nota-se que as bandas Amida I e II sofrem alterações significativas com o aumento da concentração do NaHCO₃.

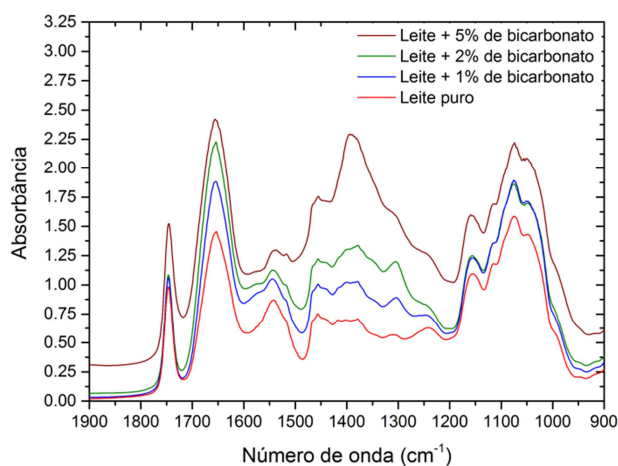


Figura 5.12: Detalhe dos espectros de leite adulterado com bicarbonato de sódio.

Em resumo, foram observadas alterações de intensidade nas bandas Amida I e II devido às adulterações. Isso indica a possibilidade de se detectar a presença

desses agentes com o dispositivo proposto neste trabalho. No caso da adição de NaOH e NaHCO₃, notou-se o aumento da absorbância, o que significa que a intensidade da luz que chega ao detector é menor e, conseqüentemente, espera-se que a fotocorrente também seja menor. Por outro lado, no caso da diluição com água, espera-se que a fotocorrente seja maior, dado que a intensidade dos picos de absorção diminui.

Vale lembrar que, foi observado um aumento do pH do leite com a adição dos adulterantes. Isso pode contribuir para as alterações nas bandas Amida I e II, já que elas dependem da estrutura secundária da proteína que, por sua vez, é influenciada por mudanças no ambiente à sua volta [49,51], como pH e temperatura. As próprias micelas de caseína também são sensíveis a mudanças no pH [9].

5.1.4 Caseína

Primeiramente, apresenta-se a absorbância da pastilha de KBr e pó de caseína, feita na UFJF (Figura 5.13). O espectro apresentou grande inclinação da linha de base e foi corrigido com o *PLS Toolbox*. As bandas Amida I e II foram identificadas e estão deslocadas para a direita, em relação às bandas Amida no leite. Porém, esse resultado está de acordo com medições realizadas de forma semelhante em outros trabalhos [70].

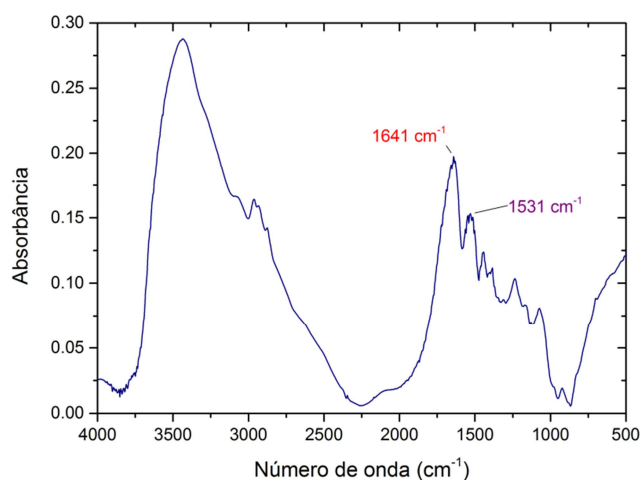


Figura 5.13: Espectro da caseína em pó em uma pastilha de KBr. Os picos da banda Amida I (vermelho) e Amida II (roxo) estão identificados.

Em seguida, temos os espectros da caseína preparada com o processo de secagem. De acordo com a seção 4.1, a partir de uma suspensão de 10% de caseína na solução de NaOH, foram preparadas as diluições com a própria solução e com água deionizada. Os espectros das amostras diluídas na solução de NaOH apresentaram maior inclinação de linha de base, principalmente nas concentrações menores de caseína. A correção de linha de base foi aplicada em todos os espectros através do *PLS Toolbox*.

A Figura 5.14 mostra os espectros da caseína: 5% em NaOH (a) e 5% em NaOH e água (b). É possível observar algumas diferenças na forma e localização dos picos. As bandas Amida I e II na amostra diluída em água possuem frequências centrais mais próximas das obtidas para o leite (Figura 5.1), o que

indica uma influência da absorção da água nessa região. Além disso, a intensidade do pico Amida I é maior, outra indicação da influência da água. Por outro lado, na amostra diluída apenas na solução de NaOH, a banda Amida I aparece com frequência mais próxima da observada na pastilha de KBr (Figura 5.13).

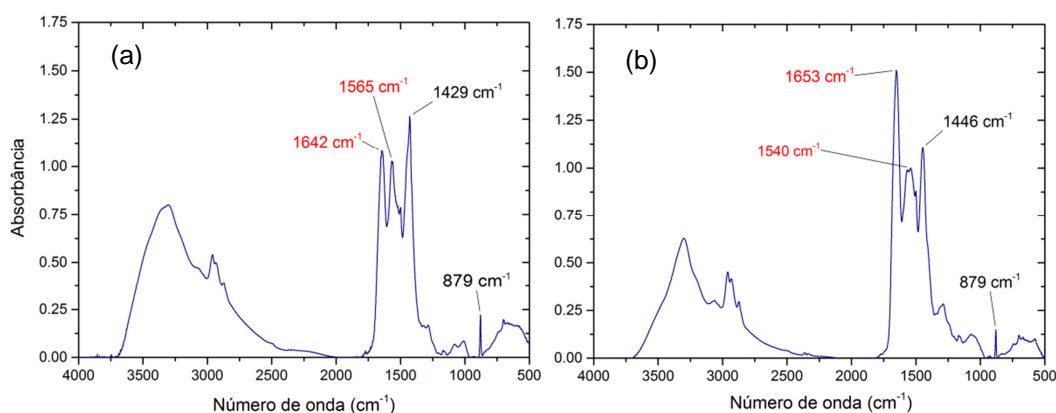


Figura 5.14: (a) Espectro da amostra de 5% de caseína em solução de NaOH. (b) Espectro da amostra de 5% de caseína em solução de NaOH + H₂O. Bandas Amida em vermelho.

Um aspecto importante é a influência do hidróxido de sódio (Figura 5.9) em ambos os espectros: o pico em 877 cm⁻¹ se mantém em 879 cm⁻¹ nos dois gráficos, enquanto o pico em 1429 cm⁻¹ é deslocado na amostra diluída com água. Novamente, o pH das suspensões é um fator que também influencia alterações nas bandas Amida I e II.

É possível ver, na Figura 5.15, o efeito da diluição das amostras de caseína em solução de NaOH (a) e em água (b). Na diluição com água, tanto o NaOH quanto a caseína têm a sua absorbância reduzida, já que a concentração de ambos é alterada. No outro caso, as bandas Amida I e II são mascaradas pelo pico característico do NaOH (seta azul na Figura 5.15 (a)), dado que a sua concentração permanece a mesma.

Vale comentar que, ao contrário das diluições com água, o comportamento desse pico em 1429 cm⁻¹ não demonstrou um padrão, isto é, sua intensidade variou de maneira inesperada. Em algumas amostras de 1%, 2% e 2,5% de caseína, sua intensidade foi significativamente maior. Um exemplo disso pode ser visto na curva de 2,5% da Figura 5.15 (a).

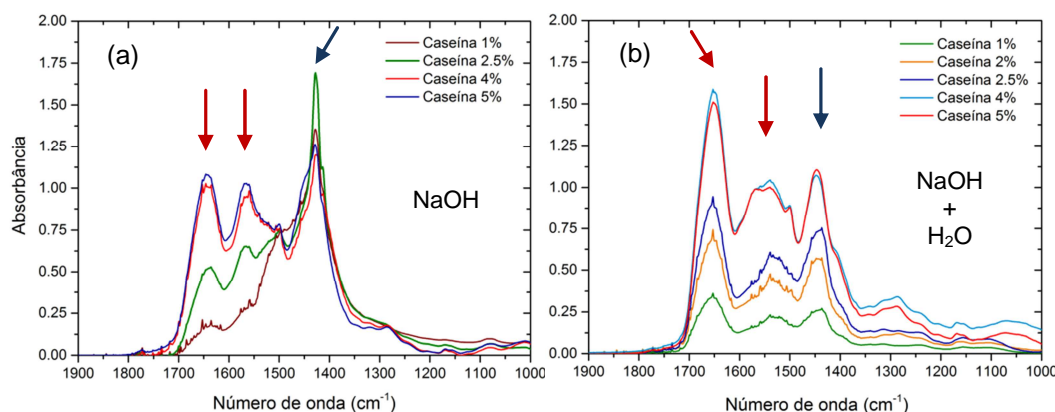


Figura 5.15: Diversas concentrações de caseína em solução de NaOH (a) e em solução de NaOH + H₂O (b). As setas vermelhas indicam as bandas Amida e as azuis, um dos picos do NaOH.

A Figura 5.16 apresenta a variação da absorbância para os picos Amida I e II das diluições preparadas. De acordo com a eq. (10) da seção 3.3, espera-se que os picos variem linearmente com a concentração da caseína. Nas amostras diluídas somente com NaOH, observa-se o comportamento linear do pico Amida II. O mesmo é visto para o pico Amida I até a concentração de 5%. Ocorreu saturação deste pico na amostra com 10% de caseína e, com isso, o seu valor máximo não pôde ser determinado. No caso das amostras diluídas com água, observa-se o comportamento linear para ambos os picos até a concentração de 4%.

O coeficiente R^2 ajustado indicado na Figura 5.16 é uma modificação do coeficiente R^2 , que leva em consideração os graus de liberdade, isto é, o efeito de crescimento de R^2 com o aumento do número de variáveis do modelo. Assim, um valor próximo da unidade também indica que o modelo é adequado.

De uma maneira geral, pode-se concluir que as diluições com água apresentem maiores semelhanças com as diluições do leite (Figura 5.8). Entretanto, a influência do NaOH é expressiva e é de interesse eliminá-la.

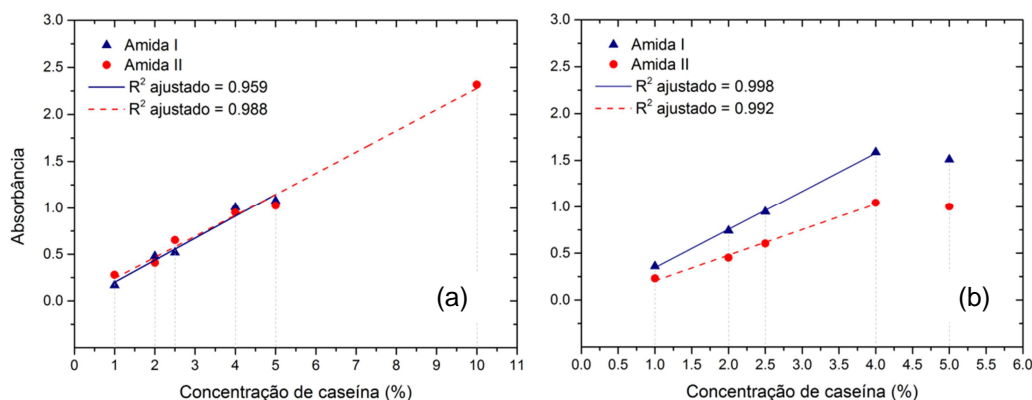


Figura 5.16: Variação da absorbância para os picos Amida I e II nas diluições com solução de NaOH (a) e água (b).

5.2

Medidas de fotocorrente no FTIR

Os resultados das duas etapas de medições de fotocorrente serão apresentados a seguir, nas subseções de cada detector. Parâmetros configuráveis no FTIR, como abertura do diafragma e resolução, foram mantidos iguais em todas as medições de fotocorrente realizadas.

Conforme mencionado na seção 3.2, há um compromisso entre resolução e tempo de medição, principalmente no modo de *step-scan*. No caso das medições de absorção realizadas no modo *continuous scan*, escolheu-se uma resolução de 2 cm^{-1} , o que resultou em uma duração de aproximadamente um minuto e quarenta segundos. No entanto, com esta mesma resolução, o tempo para obter um espectro de fotocorrente no modo *step-scan* seria muito superior. Com isso, foi necessário diminuí-la e, depois de alguns testes, constatou-se que era possível obter resultados satisfatórios com 8 cm^{-1} . As medidas com esta resolução duraram cerca de uma hora e trinta minutos para o fotodetector A e duas horas e cinquenta minutos para o fotodetector B.

5.2.1 Fotodetector A

Depois de alinhar o sistema de medição da Figura 4.12, calcula-se a intensidade de corrente no detector através da tensão no *lock-in* e do fator de amplificação. No caso do fotodetector A, a intensidade calculada foi de aproximadamente 0,3 nA, na ausência de filtros e de amostras.

A Figura 5.17 (a) mostra o espectro de fotocorrente obtido nessas condições: podem ser vistos tanto os picos resultantes de transições interbanda (comprimentos de onda abaixo de 2 μm) quanto os de intrabanda (faixa entre 4 μm e 7 μm). A região da fotocorrente de interesse pode ser vista com mais detalhes na Figura 5.17 (b). O vale, próximo a 2300 cm^{-1} é característico da absorção causada pelo CO_2 . Como o detector está fora do FTIR, não há purga e o efeito do ar no caminho óptico não é eliminado. A forma do espectro de fotocorrente está de acordo com resultados anteriores, porém os picos intrabanda estão deslocados para o sentido de maior comprimento de onda [64].

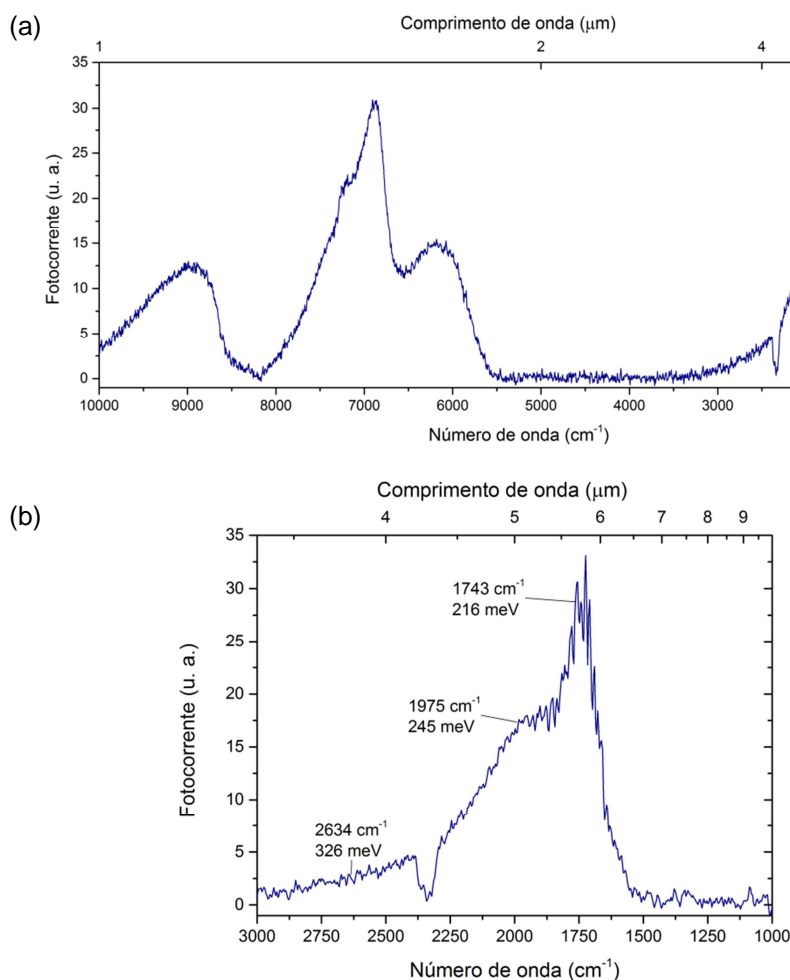


Figura 5.17: Espectro de fotocorrente do detector A (a) e detalhe da região de interesse (b).

Os picos de absorção da proteína do leite encontram-se entre 1500 cm^{-1} e 1700 cm^{-1} (Figura 5.1). Observando a Figura 5.17 (b), nota-se que uma grande parte da fotocorrente do detector A concentra-se à esquerda dessa região. Dado

que a absorbância do leite é praticamente nula entre 1750 cm^{-1} e 2500 cm^{-1} , essa discordância não seria um problema, a princípio. Entretanto, a variação na intensidade da fotocorrente devido à absorção da proteína do leite será relativamente pequena, o que limita a sensibilidade do dispositivo.

Estudos anteriores mostram que, aplicando uma tensão de polarização positiva no detector A, o pico de fotocorrente aumenta de intensidade e se desloca na direção de mais baixa energia, cobrindo de forma mais adequada a região das bandas Amida I e II. Define-se o sinal da polarização de acordo com a tensão aplicada ao topo da estrutura do detector, quando o substrato está aterrado: a polarização é positiva se a tensão é maior do que zero [64].

Uma tensão de $+100\text{ mV}$ (valor mínimo para deslocar a energia central do pico de fotocorrente [64]) foi aplicada ao detector A, resultando em um grande aumento do nível de ruído. Isso se deve à corrente de escuro, que aumenta com a ddp aplicada. Como a presença desse ruído deteriorou consideravelmente a qualidade do espectro, optou-se pela polarização nula.

Estabelecidas as condições de medição, passou-se para a segunda etapa com o fotodetector A. Inicialmente, foram obtidos espectros de fotocorrente com amostras de leite integral e de leite desnatado (Figura 5.18), preparadas com o processo de secagem. O fabricante informa que a quantidade de gordura em 200

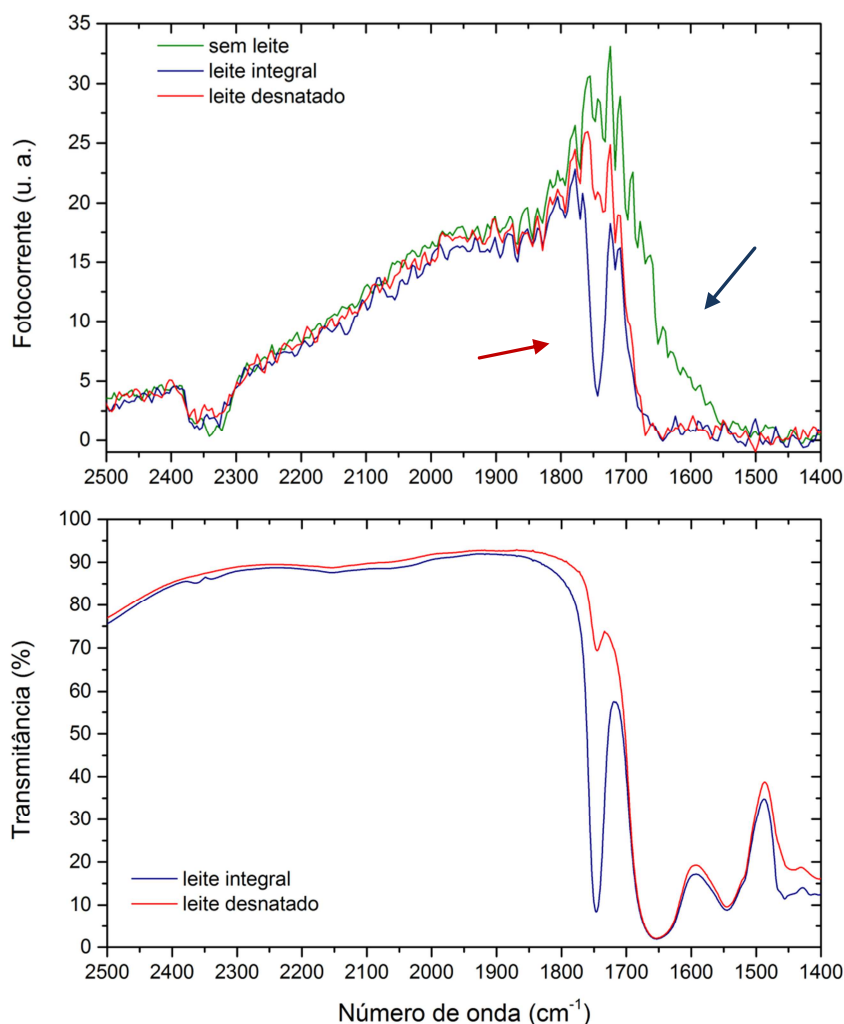


Figura 5.18: Espectros de fotocorrente do detector A com leite integral e desnatado. Na parte inferior da figura, temos a transmitância do leite integral e desnatado.

ml de leite é igual 6,0 g para o integral e 0 g para o desnatado. Observando a transmitância dessas amostras (parte inferior da Figura 5.18), nota-se a correspondência entre os vales característicos do leite e aqueles que surgem nos espectros de fotocorrente. A seta vermelha indica a variação na fotocorrente causada pela absorção da gordura no leite, destacando a diferença entre o integral e o desnatado. A seta azul mostra a variação causada pela absorção da proteína.

Em um segundo momento, desejava-se compreender a resposta do detector para amostras de leite diluído em água. Para isso, além de analisar os espectros de fotocorrente, fez-se uma simulação da resposta do detector, baseada em ajustes de curvas obtidas anteriormente. Os picos de fotocorrente foram ajustados por curvas lorentzianas [64], assim como as bandas de absorbância Amida I, Amida II e Gordura A. Na verdade, as bandas Amida I e II são formadas pela sobreposição de picos mais finos, geralmente ajustados por gaussianas, lorentzianas ou uma combinação das duas [42,49,70,71]. Entretanto, no contexto deste trabalho, a aproximação de cada pico por apenas uma lorentziana é suficiente, pois há interesse apenas na forma geral das bandas de absorção. O resultado dos ajustes nas regiões de interesse pode ser visto na Figura 5.19.

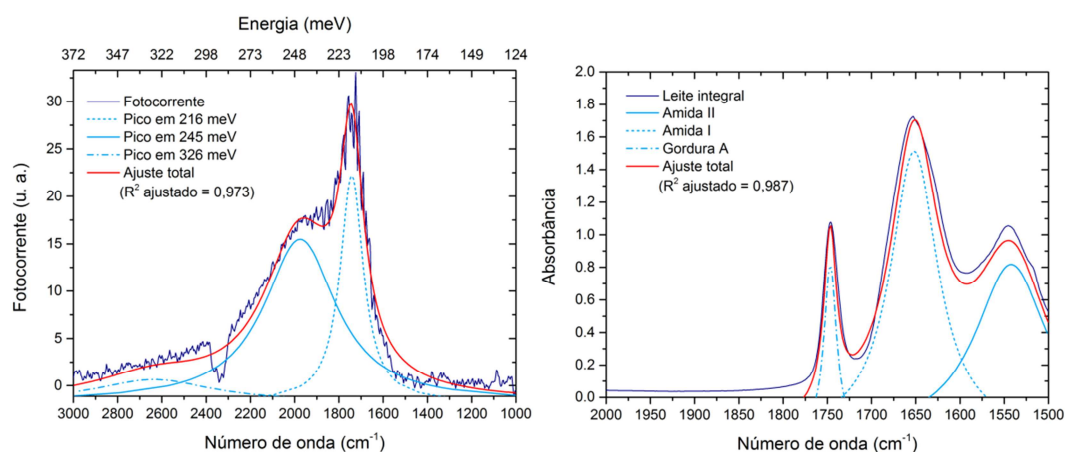


Figura 5.19: Ajuste dos picos de fotocorrente do detector A (esquerda) e dos picos de absorbância Amida I, Amida II e Gordura A (direita).

Uma vez obtido o ajuste da curva de absorbância do leite puro, para calcular as curvas das diluições, basta multiplicar pela razão de leite em cada solução, dado que a absorbância varia linearmente com a concentração⁴. Utilizando as funções analíticas obtidas para os picos de absorbância, calculou-se a função transmitância das amostras, conforme a eq. (7) da seção 3.2.

A fotocorrente gerada no detector na ausência de amostras se deve à intensidade de luz I_0 , isto é, ela é a resposta do detector quando a intensidade é I_0 . Considerando a presença da amostra, temos que a intensidade que chega ao detector é dada por:

$$I(\nu) = I_0(\nu) \cdot 10^{-A(\nu)} \quad (13)$$

onde $A(\nu)$ é a absorbância da amostra e a exponencial, a transmitância.

⁴ Os ajustes foram feitos no *software* OriginPro 9.0 e a simulação das curvas no Maple 13.

Multiplicando a função de ajuste da resposta do detector pela transmitância determinada, conforme explicitado acima, para diferentes diluições, chega-se às curvas da Figura 5.20 (a). É possível perceber a semelhança entre os espectros de fotocorrente assim obtidos e os espectros medidos no FTIR (Figura 5.21), principalmente nos vales relativos à absorção dos lipídios. No entanto, dado o ruído no espectro medido, não é possível avaliar visualmente a variação nos vales correspondentes à absorção da proteína.

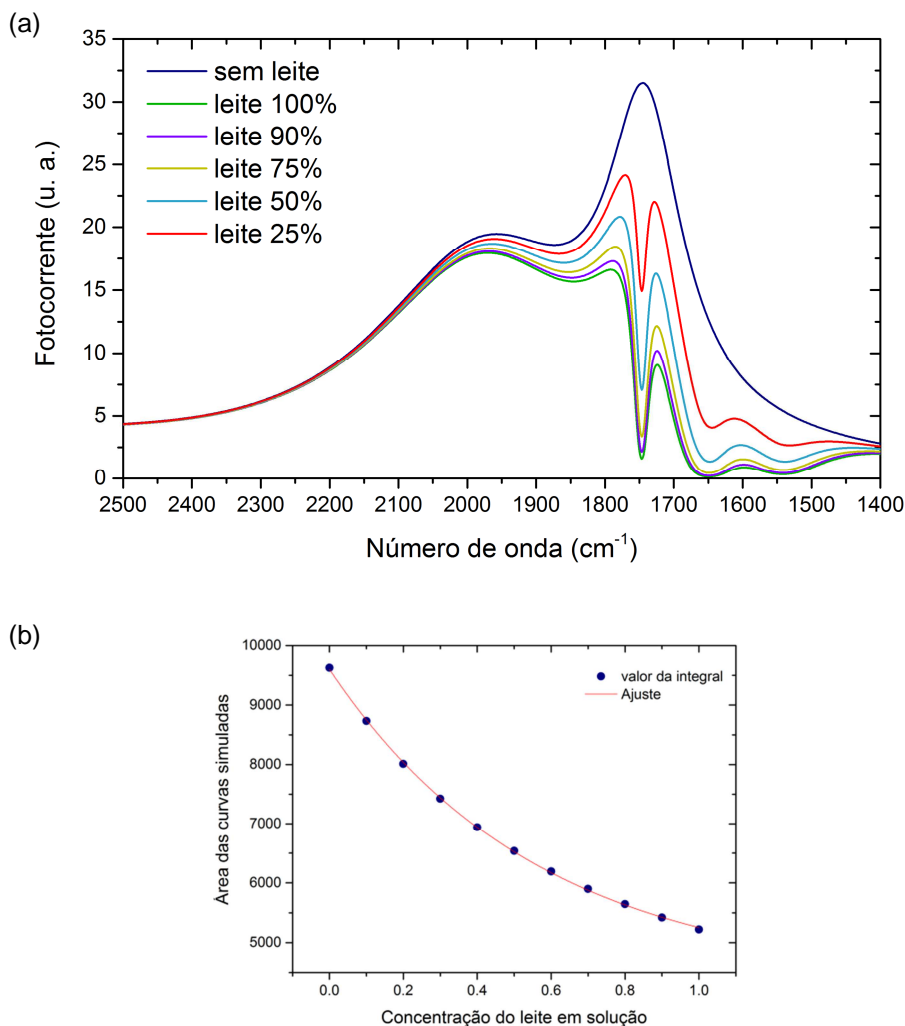


Figura 5.20: Determinação da resposta do detector A para diversas concentrações de leite integral (a) e área das curvas calculadas (b).

Outro ponto importante da simulação é a análise do comportamento das integrais das curvas de fotocorrente. Nota-se que a área das curvas decresce exponencialmente com o aumento da concentração (Figura 5.20 (b)). Como a intensidade da corrente do detector é proporcional à área do seu espectro, esta também deve apresentar comportamento exponencial. Isto significa que, na simulação experimental do dispositivo, espera-se que as intensidades de fotocorrente medidas pelo *lock-in* variem exponencialmente com as diluições. Podemos estender estas conclusões para o detector B, já que a diferença nas curvas se deve apenas aos parâmetros das lorentzianas ajustadas aos picos.

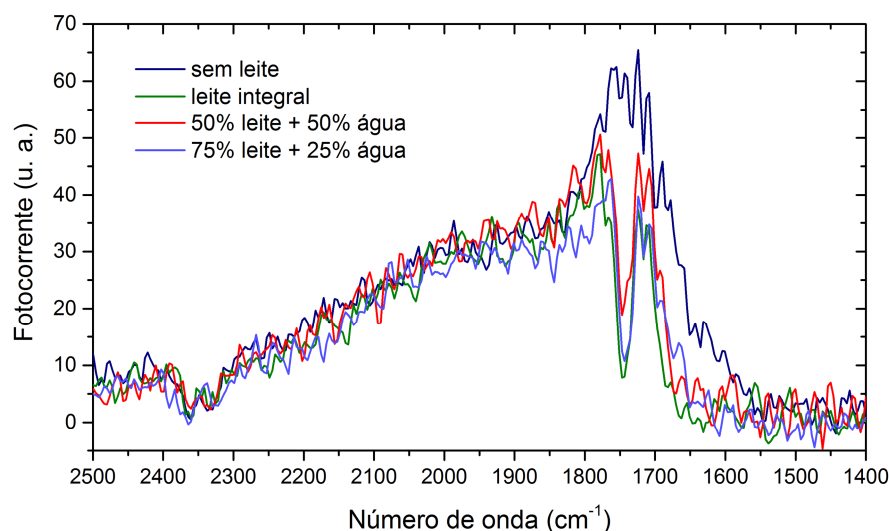


Figura 5.21: Espectros de fotocorrente do detector A para diluições do leite com água.

5.2.2 Fotodetector B

Segundo resultados obtidos anteriormente, a fotocorrente do detector B possui dois picos que se sobrepõem (190 meV e 230 meV) e têm a sua intensidade alterada de acordo com a tensão de polarização. Tensões negativas aumentam o pico de maior energia em detrimento do outro. Tensões positivas valorizam o pico de 190 meV, mas não diminuem significativamente o pico de 230 meV. Quando a tensão é nula, o pico de menor energia é praticamente inexistente [63].

Com base nesses dados, entende-se que há necessidade da polarização positiva, pois somente o pico de 190 meV (1532 cm^{-1}) está na região de interesse. A aplicação de uma tensão no detector B eleva significativamente o nível de ruído comparado à situação de polarização nula, devido ao aumento da corrente de escuro. Assim, conforme indicado na seção 4.4, foi necessário utilizar um filtro de InAs, que corta comprimentos de onda abaixo de $3,4 \mu\text{m}$, em todas as medições. Após alguns testes, constatou-se que uma polarização de +200 mV era suficiente para aumentar a intensidade do pico desejado.

A intensidade de corrente calculada para o detector B foi razoavelmente menor: cerca de 30 pA. Isso é esperado pois, com o filtro, elimina-se a fotocorrente devida a transições interbanda, que representa uma grande parte da intensidade total. O espectro obtido pode ser visto na Figura 5.22 (a): nota-se a ausência de fotocorrente na região abaixo de $3,4 \mu\text{m}$.

É importante ressaltar que o espectro da Figura 5.22 foi tratado digitalmente (filtro de Savitzky-Golay) para facilitar a visualização dos picos. Mesmo com o filtro de InAs, a corrente de escuro ainda limitou o fator de amplificação – uma ordem de grandeza abaixo do escolhido para o detector A. Consequentemente, a relação sinal-ruído também ficou abaixo do desejado, sendo necessário utilizar constantes de integração maiores no *lock-in*. Isso explica o tempo de medição maior para o fotodetector B.

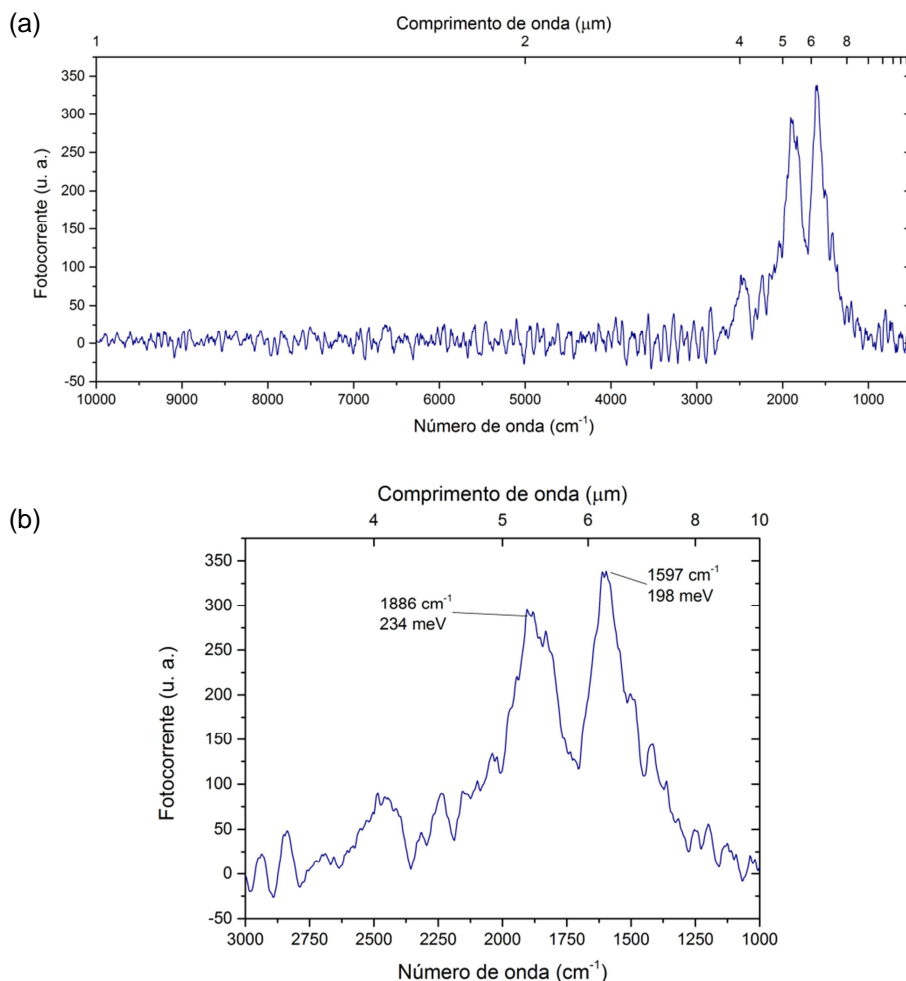


Figura 5.22: (a) Espectro de fotocorrente do detector B. (b) Detalhe da região de interesse.

A Figura 5.23 mostra a influência da amostra de leite integral seco na fotocorrente do detector B. Devido ao ruído presente no espectro, não é possível ver claramente a correspondência entre os vales na transmitância do leite e os vales na fotocorrente. No entanto, pode-se confirmar que ela diminui apenas na região de absorção do leite. Também podemos ver que o pico de 198 meV está mais centrado na região das bandas Amida I e II do que a fotocorrente do detector A. Isso pode representar uma vantagem no quesito sensibilidade. Vale comentar que esses espectros passaram pelo mesmo tratamento digital do anterior.

A partir desses resultados, algumas comparações podem ser feitas entre os fotodetectores com relação aos requisitos de projeto, determinados na seção 4.3.

Em primeiro lugar, observou-se que, no quesito compatibilidade, o fotodetector B se mostrou mais adequado. Na verdade, a fotocorrente do detector A está mais centrada em um dos picos de absorção dos lipídios do que nos picos da proteína, tornando-o mais sensível a variações na concentração da gordura no leite.

Já com relação à seletividade, ambos podem ser influenciados por bandas de absorção adjacentes. No caso do detector A, a base do pico de fotocorrente se alarga em uma faixa relativamente extensa. Na fotocorrente do detector B temos o pico de maior energia, o qual é indesejável.

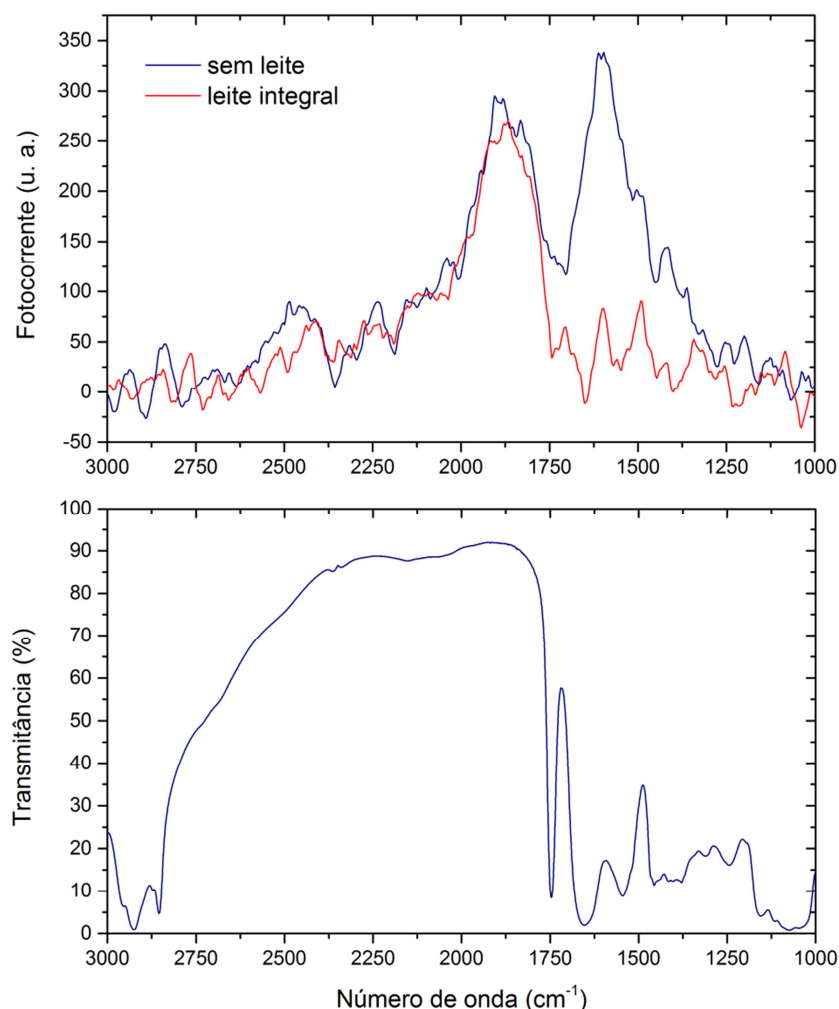


Figura 5.23: Espectro da fotocorrente do detector B com leite integral. Na parte inferior da figura, temos a transmitância do leite integral.

Calculando a intensidade de fotocorrente devida apenas a transições intrabanda, obteve-se 30 pA para o detector B e 20 pA para o detector A. Em termos da complexidade de amplificação, pode-se considerar que ambas são equivalentes. Por outro lado, nas condições das medidas realizadas, o nível de ruído no detector B é consideravelmente maior do que no detector A. Um alto nível de ruído exige sistemas de amplificação e filtragem mais complexos.

5.3

Simulação do dispositivo de fotodetecção da proteína do leite

A Figura 5.24 mostra a intensidade da fotocorrente do detector A para amostras de leite seco com diferentes concentrações. Entende-se aqui como concentração, a razão em volume de leite na solução leite + água. Desta forma, a concentração igual à unidade corresponde ao leite puro e a concentração nula, à ausência de leite na solução. Vale lembrar que a amostra de concentração nula equivale à janela de ZnSe limpa, já que a água é removida no processo de secagem.

O registro de um valor de fotocorrente foi feito após três constantes de tempo de integração: com um temporizador, marca-se 30 s e no final do tempo, o

valor é anotado. Os pontos para uma determinada concentração resultam de uma mesma amostra medida diversas vezes, isto é, ela é retirada e reposicionada para a medida, seguinte sem refazer o alinhamento do sistema. Assim, as discrepâncias nos pontos podem ser justificadas pela oscilação do sistema – registra-se um valor aleatório após 30 segundos – e pelo erro de alinhamento. Foi possível ajustar uma curva exponencial aos pontos medidos, o que indica que o sistema se comporta de maneira esperada.

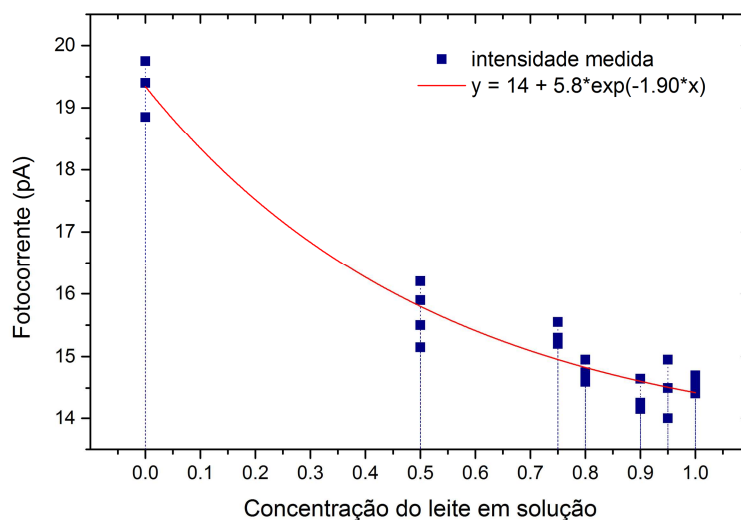


Figura 5.24: Intensidades de fotocorrente no detector A em função da concentração de leite na diluição.

Para comparar os resultados da Figura 5.24 com os espectros da Figura 5.21, é preciso normalizar as intensidades de fotocorrente e a área dos espectros. Divide-se a intensidade resultante de cada amostra pela intensidade na presença apenas da janela de ZnSe (Figura 5.25). O mesmo é feito com as áreas dos espectros correspondentes, obtendo razões de 0,85, 0,73 e 0,74 para as curvas de 50%, 75% e 100% de leite, respectivamente. Observando os pontos destacados na Figura 5.25, nota-se que os valores são semelhantes.

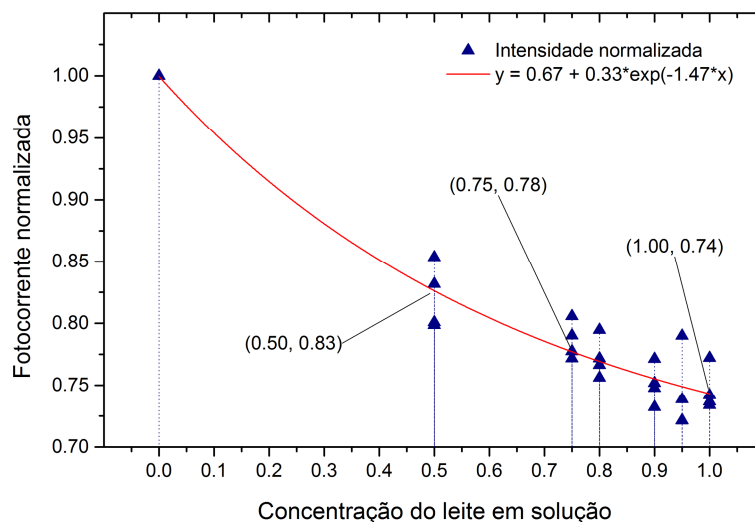


Figura 5.25: Intensidades normalizadas de fotocorrente no detector A, em função da concentração de leite na diluição.

As mesmas medições de intensidade foram realizadas com o fotodetector B (Figura 5.26). A diferença entre elas se deve somente ao modo de registro dos valores. Cada amostra foi medida uma vez, registrando os valores mínimo e máximo observados após quatro constantes de tempo. Isso foi necessário, porque os resultados obtidos com o método anterior não foram satisfatórios. A relação sinal-ruído para o detector B é baixa, isto é, ele é sensível a oscilações do sistema, o que prejudica o processo de medição.

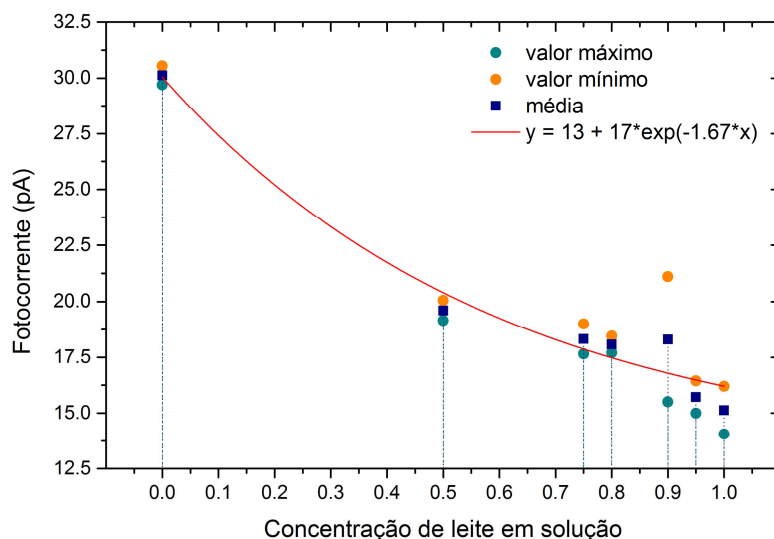


Figura 5.26: Intensidades de fotocorrente no detector B em função da concentração de leite na diluição.

Pode-se notar que o comportamento exponencial também aparece nas medidas com o fotodetector B.

Para comparar o desempenho dos detectores, pode-se estimar a sensibilidade de cada um. Isso foi feito dividindo a curva exponencial de ajuste em dois segmentos de reta: de 0 a 0,5 e de 0,5 a 1,0. Assim, determina-se a variação da fotocorrente nestes intervalos para cada uma das curvas de ajuste. O detector A apresentou uma variação de -0,71 pA a cada 10% de variação da concentração do leite, no primeiro trecho, e -0,25 pA, no segundo. Já para o detector B, estimou-se -1,93 pA no primeiro trecho e -0,84 pA no segundo.

Esses resultados confirmam o que foi observado nos espectros de fotocorrente de cada detector (Figura 5.17 e Figura 5.22): aquele que possui maior compatibilidade com os picos de absorção do leite apresenta maior sensibilidade. Quanto maior a influência dos picos de absorção na fotocorrente, maior será a variação de intensidade percebida e, portanto, maior a sensibilidade.

É importante comentar que as sensibilidades discutidas não incluem o fator de amplificação, pois o objetivo aqui é a comparação do desempenho apenas dos fotodetectores. Porém, no dispositivo final, a sensibilidade inclui esse fator: quanto maior a amplificação, maior a sensibilidade total. Desta forma, o ruído nos detectores, fator que limita a amplificação, afeta diretamente a sensibilidade do dispositivo como um todo. Nesse sentido, o detector B está em desvantagem, pois a máxima amplificação permitida foi dez vezes menor do que a do detector A.

As intensidades de fotocorrente para as amostras de leite semidesnatado e desnatado também foram medidas com o fotodetector A, em função da concentração de gordura, fornecida pelo fabricante. Nesse caso, a concentração

zero corresponde ao leite desnatado, o que é diferente da ausência de amostras nos casos anteriores. A Figura 5.27 mostra essas intensidades normalizadas pela fotocorrente na ausência de amostras. Dado que há poucos pontos, não foi feito um ajuste do decaimento.

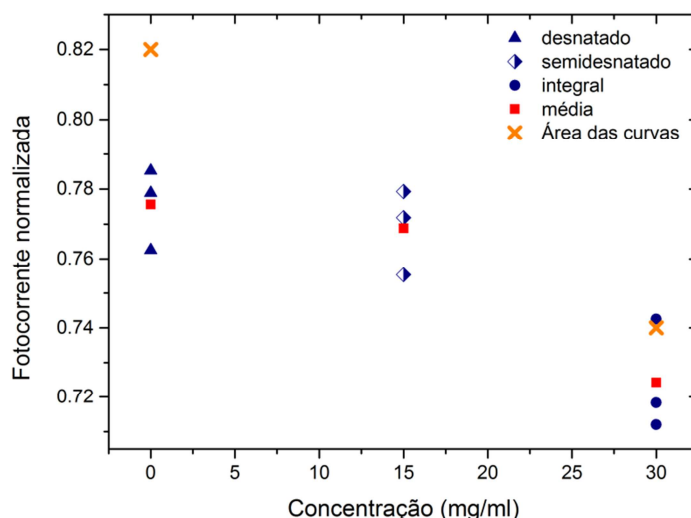


Figura 5.27: Intensidades normalizadas de fotocorrente do detector A para amostras de leite integral, semidesnatado e desnatado.

A razão entre as áreas dos espectros de fotocorrente para as amostras de leite integral e desnatado (Figura 5.18) e do espectro sem amostras foi calculada. Elas também aparecem na Figura 5.27 e podem ser comparadas às intensidades normalizadas. Nota-se que são maiores do que a média dos pontos, porém, considerando que há ruído nos espectros, as discrepâncias são esperadas.

A Figura 5.28 mostra as intensidades de fotocorrente do detector A para amostras adulteradas com bicarbonato de sódio (indicadas pela letra B) e com NaOH (indicadas pela letra N). Ambas são comparadas com a intensidade de controle (leite puro). De acordo com os espectros de absorvância na seção 5.1.3, todas as amostras alteradas com essas substâncias deveriam apresentar intensidades menores que a do controle, dado que a absorvância aumentou para as curvas

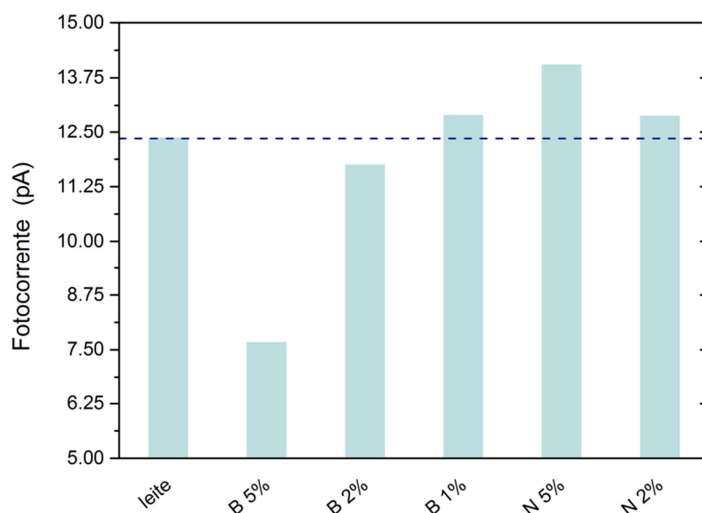


Figura 5.28: Intensidades de fotocorrente do detector A para amostras de leite adulteradas.

correspondentes. Assim, a presença dos adulterantes em questão poderia ser detectada em consequência de uma diminuição expressiva na intensidade da fotocorrente. Porém, somente as intensidades relativas às amostras com 5% e 2% de bicarbonato de sódio apresentaram o comportamento esperado. Desta forma, conclui-se que apenas a presença do bicarbonato de sódio, em concentrações maiores que 2%, poderia ser percebida.

Finalmente, foram medidas as intensidades do fotodetector B para as diluições de caseína em solução de NaOH (Figura 5.29 (a)) e em água (Figura 5.29 (b)). Os resultados para o detector A não foram satisfatórios, o que pode ser explicado pela baixa sensibilidade na região de absorção da caseína.

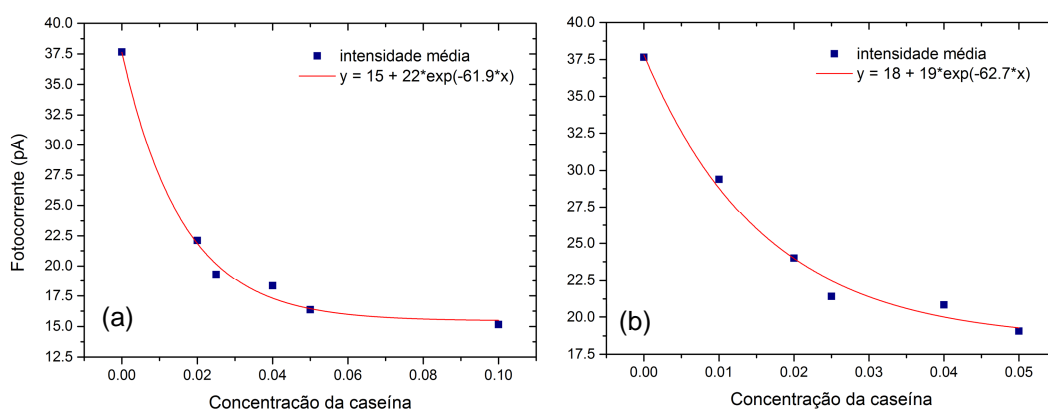


Figura 5.29: Intensidades de fotocorrente no detector B para amostras de caseína diluídas em solução de NaOH (a) e água (b).

Nota-se o comportamento exponencial para ambas as curvas, conforme esperado. As taxas de decaimento das exponenciais ajustadas foram semelhantes – a diferença aparente nas curvas se deve apenas à escala do eixo das concentrações. Cabe mencionar que a intensidade para 1% de caseína diluída em solução de NaOH foi removida do ajuste da Figura 5.29 (a), pois o valor obtido foi razoavelmente menor que o esperado. Isso pode ser explicado pelo pico de absorção do NaOH, que mascara as bandas Amida I e II, conforme visto na Figura 5.15 (a).

A sensibilidade para a curva de ajuste da diluição em água foi estimada da mesma forma descrita anteriormente. O trecho de concentração da caseína de 0 a 0,02 apresentou variação de -6,92 pA por unidade percentual e o trecho de 0,02 a 0,05 de -1,56 pA por unidade percentual.

Vale lembrar que, a concentração média de proteína no leite é de aproximadamente 3%. Isto significa que a curva de diluição do leite da Figura 5.26 corresponderia à faixa de 0 a 3% de concentração da caseína. A variação ΔI da intensidade de fotocorrente de 0 a 100% de leite é igual a 16,25 pA. Já para a curva da caseína diluída em água, ΔI corresponde a 16,42 pA, no trecho entre 0 e 3%. Esta semelhança indica que a alteração observada na fotocorrente do detector B, para as amostras de diluição do leite, se deve principalmente à variação da proteína.

5.4

Proposta de um fotodetector para a quantificação da proteína do leite

Buscando melhorias no desempenho do dispositivo proposto, podemos idealizar uma estrutura alternativa de fotodetector.

Com base nos resultados obtidos para os detectores A e B, foi possível constatar que a centralização do pico de fotocorrente na região das bandas Amida I e II é fundamental para uma melhor sensibilidade. Assim, a compatibilidade da fotocorrente continua sendo o principal requisito para a estrutura.

Outro fator importante é a largura do pico de fotocorrente. Ambos os detectores estudados possuem picos de fotocorrente atribuídos a transições entre estados ligados [63,64], isto é, eles são seletivos em energia. No entanto, os picos se sobrepõem, aumentando a largura efetiva da fotocorrente. Para contornar essa questão, pode-se pensar em uma estrutura com apenas uma transição intrabanda entre estados ligados.

Finalmente, deseja-se aumentar o nível de fotocorrente para a faixa de nanoampères, com o objetivo de simplificar o sistema de amplificação.

Apesar da estrutura de um QDIP permitir incidência normal da radiação – condição que facilita a implementação do dispositivo final – podemos controlar melhor as energias das transições nas estruturas de QWIP. Assim, optou-se por uma estrutura baseada em poços quânticos, com o objetivo de sintonizar com maior precisão a energia do pico de fotocorrente na região de interesse.

Além disso, conforme visto na seção 2.2, os níveis de corrente de escuro em QDIPs previstos em teoria não foram atingidos, isto é, ainda são maiores do que em QWIPs. Desta forma, os QWIPs podem ser mais convenientes com relação ao nível de ruído.

Escolheu-se trabalhar com estruturas baseadas em poços quânticos de GaAs/Al_xGa_{1-x}As. Dentre as vantagens desses materiais, temos a tecnologia de crescimento, que é bem estabelecida, e o casamento do parâmetro de rede, garantido em toda a faixa de concentração do alumínio na liga [33].

Na Figura 5.30, pode-se observar que a faixa de energias das bandas Amida I e II no leite se estende de 185 meV a 212 meV. Assim, pretende-se que a energia do pico de fotocorrente seja igual a 198 meV: o centro desta faixa.

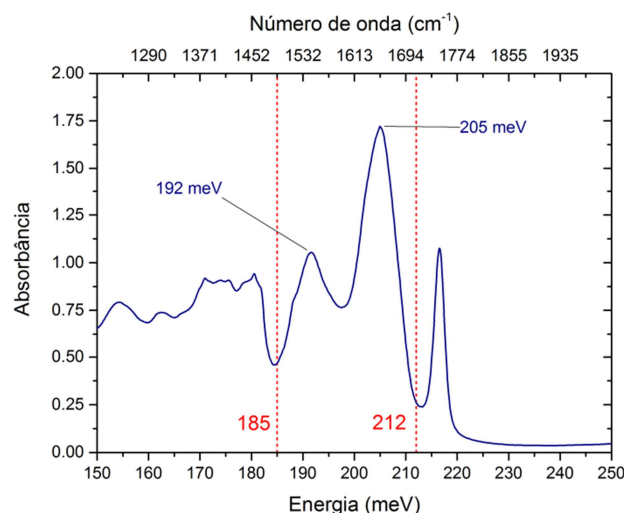


Figura 5.30: Absorbância do leite integral em função da energia.

Conforme mencionado anteriormente, para atender às condições de seletividade, deseja-se que o poço quântico possua apenas dois estados ligados, com diferença de 198 meV. Além disso, a energia do primeiro estado excitado deve ser relativamente próxima à da barreira, de forma que a ddp necessária para extrair os portadores de carga do poço seja pequena. De acordo com a seção 2.1.1, o tunelamento termicamente assistido é facilitado por esta ddp: se utilizarmos tensões menores, reduz-se a probabilidade de tunelamento e, consequentemente, a corrente de escuro.

Diferentes estruturas foram simuladas utilizando o *software* baseado no método numérico descrito em [72], variando a largura do poço e a concentração de alumínio. A partir dos resultados obtidos, sugere-se a estrutura apresentada na Figura 5.31, a qual atende às condições de energia determinadas. A estrutura final é MQW: dez períodos de poços quânticos com espessura igual a 4,8 nm e barreiras de 100 nm.

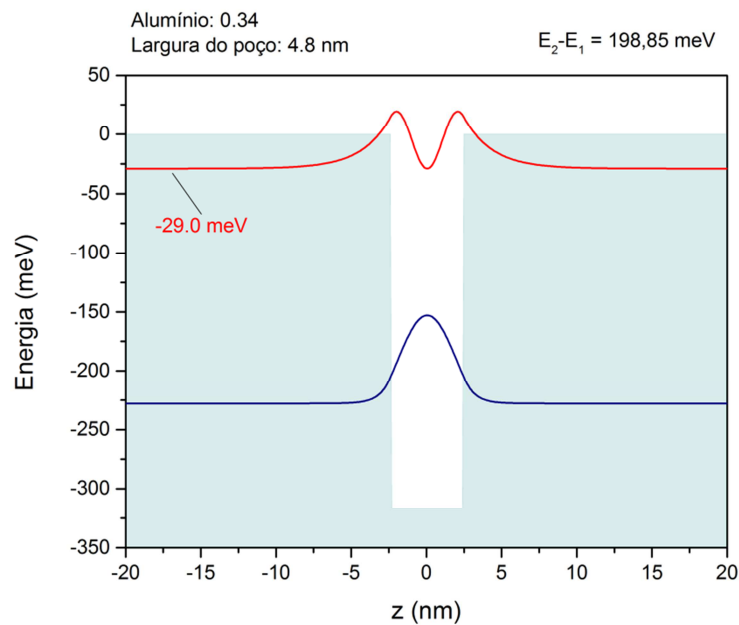


Figura 5.31: Estrutura de um poço quântico de GaAs/ $\text{Al}_x\text{Ga}_{1-x}\text{As}$, simulada no software de [72].

A partir dos resultados obtidos, pode-se concluir que é possível utilizar a medida da fotocorrente gerada por detectores seletivos para quantificar a proteína do leite. Em outras palavras, os fotodetectores baseados em transições intrabanda podem ser o elemento sensor de um instrumento de medição da proteína do leite. É importante notar que o princípio também se aplica aos lipídios e à lactose. Basta utilizar detectores cuja fotocorrente esteja centrada na região de absorção desses componentes.

A metodologia utilizada para atingir os objetivos propostos seguiu duas frentes de estudo: a análise das amostras de leite e caseína e a avaliação dos fotodetectores baseados em nanoestruturas.

Primeiramente, foram comparadas amostras de leite seco e leite líquido, tanto em relação ao modo de preparo quanto à qualidade dos espectros de absorção obtidos no FTIR. Para ambos os tipos de amostra, as frequências dos picos de absorção encontradas estão de acordo com a literatura. Entretanto, os espectros das amostras de leite líquido apresentaram interferência, além de uma forte influência da absorção causada pela água nos picos característicos da proteína.

Assim, a redução da influência da água através do processo de secagem foi fundamental para as medidas. Como o processo envolve apenas esquentar o leite à temperatura relativamente baixa, ele pode ser empregado no sistema de medição como um todo. Por outro lado, a uniformidade de superfície e espessura das amostras ainda precisa ser aprimorada, para reduzir o erro entre amostras semelhantes.

Também foram estudados espectros de absorção de amostras de leite adulterado com bicarbonato de sódio e hidróxido de sódio. A partir dos resultados, constatou-se que as adulterações feitas podem modificar tanto o formato quanto a intensidade dos picos característicos do leite. Observou-se que a intensidade dos picos de absorção aumenta com a concentração do adulterante, o que indica possibilidade de detecção com o sistema proposto.

Finalmente, foram preparadas diluições de caseína em solução de NaOH e em água, para compará-las com as diluições do leite. Os espectros de absorção das amostras diluídas em água se assemelham mais com os do leite.

Para avaliar os fotodetectores, foi feita uma montagem experimental para a medida da fotocorrente utilizando o FTIR. Comparando-se os espectros de fotocorrente na ausência e na presença de amostras de leite no caminho óptico, foi possível concluir que a fotocorrente de ambos os detectores é influenciada pela absorção do leite. Porém, o detector B apresenta maior compatibilidade com as bandas Amida I e II.

Além dos espectros de fotocorrente, foi feita uma simulação da resposta do detector A para diferentes concentrações de leite, baseada em ajustes de curvas obtidas anteriormente. Os resultados estão de acordo com as curvas obtidas experimentalmente. Ainda a partir das curvas calculadas, foi possível observar

que a intensidade da fotocorrente decai exponencialmente com o aumento da concentração de leite. Esse comportamento é esperado para ambos os detectores.

Por fim, uma simulação experimental do instrumento de medição proposto foi realizada para ambos os detectores. As intensidades de fotocorrente foram registradas para amostras de diluição de leite e caseína, assim como para as amostras de leite adulterado.

Nas amostras de diluição do leite, ambos os detectores apresentaram o comportamento exponencial esperado. Por outro lado, os resultados para as amostras de caseína foram satisfatórios apenas para o detector B. Isso se deve à pequena compatibilidade do detector A com as bandas Amida I e II da caseína.

Com base nas respostas do detector B para a diluição do leite e da caseína, bem como nos espectros de absorção de ambos, entende-se que a caseína pode ser utilizada na calibração da medida. Porém, como o hidróxido de sódio influencia a região do espectro das bandas Amida I e II, pode-se estudar o uso de outras substâncias para fazer a suspensão do pó de caseína, que serve como base para as diluições em água.

Os resultados para a variação da fotocorrente devido à presença de adulterantes mostraram que apenas concentrações acima de 2% de bicarbonato de sódio podem ser notadas. No caso do hidróxido de sódio, é necessário estudar melhor os efeitos da substância no leite, dado que os espectros de absorbância não corresponderam aos resultados do detector A.

Comparando as sensibilidades estimadas dos detectores A e B foi possível observar a importância da compatibilidade da fotocorrente com as bandas Amida I e II. Desta forma, o detector B se mostrou mais adequado para a quantificação da proteína no leite do que o detector A. Dado o comportamento exponencial dos detectores, pode-se obter maiores sensibilidades na região inicial das curvas: para o detector B, -1,93 pA a cada 10% de variação da concentração do leite e, para o detector A, -0,71 pA. Considerando o amplificador de transimpedância, os valores correspondentes são: -3,86 μ V para o detector B e -14,2 μ V para o detector A. Assim, fica evidente a limitação causada pelo ruído no detector B, que restringe o nível de amplificação.

Com a estrutura proposta na seção 5.4, pretende-se atingir uma sensibilidade maior, através do aumento da seletividade da fotocorrente e da compatibilidade com as bandas de absorção da proteína. Deseja-se, também, com essa estrutura, reduzir o nível de corrente de escuro, para que a sensibilidade do conjunto fotodetector e sistema de amplificação seja maior.

Assim, além dos estudos já citados, os trabalhos futuros envolvem, principalmente, a fabricação e caracterização da estrutura sugerida, bem como o desenvolvimento de um sistema de amplificação adequado, visando um instrumento portátil.

1. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Cows milk production and consumption:** summary for selected countries. In: PSD online: Production, supply and distribution. Washington, 2015. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/>>. Acesso em: out. 2015.
2. UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Fluid milk - cow numbers:** summary for selected countries. In: PSD online: Production, supply and distribution. Washington, 2015. Disponível em: <<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/>>. Acesso em: out. 2015.
3. IBGE. **Pesquisa Trimestral do Leite.** Rio de Janeiro, 2004 a 2014. tab. 1086. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: out. 2015.
4. IBGE. **Produção da Pecuária Municipal.** Rio de Janeiro, 2014. v. 42. Disponível em: <http://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/periodicos/84/ppm_2014_v42_br.pdf>. Acesso em: out. 2015. (Relatório).
5. IBGE. **Pesquisa Pecuária Municipal.** Rio de Janeiro, 2004 a 2014. tab. 74, 94. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br>>. Acesso em: out. 2015.
6. PICOLI, T. et al. Milk production characteristics in Southern Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, p. 1991 - 1998, 2015.
7. GARGOURI, A. et al. Evaluation of tunisian milk quality in dairy herds: Inter-relationship between chemical, physical and hygienic criteria. **Animal Science Journal**, v. 85, p. 714-721, 2014.
8. SRAÏRI, M. T. et al. Effect of cattle management practices on raw milk quality on farms operating in a two-stage dairy chain. **Tropical animal Health and Production**, v. 41, p. 259-272, 2009.
9. FOX, P. F. The major constituents of milk. In: SMIT, G. **Dairy Processing: Improving Quality.** Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2003. Cap. 2, p. 5-41.
10. JENNESS, R. Composition of milk. In: WONG, N. P., et al. **Fundamentals of dairy chemistry.** 3. ed. New York: Van Nostrand Reinhold Company, 1988. Cap. 1, p. 1-38.
11. TAMIME, A. Y. (Ed.). **Structure of dairy products.** Chichester: Wiley-Blackwell, 2007.
12. WALSTRA, P. **Dairy technology:** Principles of milk properties and processes. New York: CRC Press, 1999.
13. JENSEN, R. **Handbook of milk composition.** Jordan Hill: Academic

Press, 1995.

14. BOLAND, M. Influences on raw milk quality. In: SMIT, G. **Dairy Processing: Improving Quality**. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2003. Cap. 3, p. 42-67.
15. RIBEIRO JUNIOR, J. C. et al. Quality of milk produced by small and large dairy producers. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, 2015.
16. CASSOLI, L. D. et al. An assessment of fourier transform infrared spectroscopy to identify adulterated raw milk in Brazil. **International Journal of Dairy Technology**, v. 64, p. 480-485, 2011.
17. IÑÓN, F. A.; GARRIGUES, S.; DE LA GUARDIA, M. Nutritional parameters of commercially available milk samples by FTIR and chemometric techniques. **Analytica Chimica Acta**, p. 401-412, 2004.
18. KAROUI, R.; DE BAERDEMAEKER, J. A review of the analytical methods coupled with chemometric tools for the determination of the quality and identity of dairy products. **Food Chemistry**, v. 102, p. 621-640, 2007.
19. SALEH, B. E. A.; TEICH, M. C. **Fundamentals of photonics**. 2. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2007.
20. LEVINE, B. F. Quantum well infrared photodetectors. **Journal of Applied Physics**, v. 74, p. R1-R81, 1993.
21. GUNAPALA, S. D.; BANDARA, K. M. S. V. Recent developments in quantum-well infrared photodetectors. In: FRANCOMBE, M. H.; VOSSEN, J. L. **Homojunction and quantum well infrared photodetectors**. San diego: Academic Press, 1995. p. 113-237. (Thin Films, v. 21).
22. STREETMAN, B. G. **Solid state electronic devices**. 4. ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1995.
23. LI, S. S.; TIDROW, M. Z. Quantum well infrared photodetectors. In: NALWA, H. S. **Handbook of Nanostructured Materials and Nanotechnology**. Burlington: Academic Press, 2000. p. 561-619.
24. ROGALSKI, A. **Infrared detectors**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2010.
25. WEST, L. C.; EGLASH, S. J. First observation of an extremely large-dipole transition within the conduction band of GaAs quantum well. **Applied Physics Letters**, v. 46, p. 1156-1158, 1985.
26. SHANKAR, R. **Principles of quantum mechanics**. 2. ed. New York: Plenum Press, 1994.
27. RAZEGHI, M. **Fundamentals of solid state engineering**. New York: Kluwer Academic Publishers, 2002.
28. LIU, H. C. Quantum well infrared photodetectors physics and novel devices. In: LIU, H. C.; CAPASSO, F. **Intersubband transitions in quantum wells: Physics and device applications**. 1999. Cap. 3, p. 129-196. (Semiconductors and Semimetals, v. 62).
29. PRALON, B. P. F. **Avaliação do desempenho de QWIPs em função da dopagem**. 2013. 102f. Dissertação (Mestrado) - Departamento de Engenharia Elétrica, Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de

Janeiro, 2013.

30. GUNAPALA, S. D.; BANDARA, K. M. S. V. GaAs/AlGaAs multiquantum well-based infrared focal plane arrays for infrared imaging applications. In: RYZHII, V. **Intersubband infrared photodetectors**. 2003. p. 99-121. (Selected Topics in Electronic and Systems, v. 27).
31. HELM, M. The basic principles of intersubband transitions. In: LIU, H. C.; CAPASSO, F. **Intersubband Transitions in Quantum Wells: Physics and Device Applications**. 1999. Cap. 1, p. 1-99. (Semiconductors and Semimetals, v. 62).
32. BANDARA, S. et al. Quantum well infrared photodetectors: device physics and light coupling. In: LI, S. S.; SU, Y.-K. **Intersubband transitions in quantum wells: Physics and Devices**. 1998. p. 43-49.
33. ROGALSKI, A. Infrared detectors: status and trends. **Progress in Quantum Electronics**, v. 27, p. 59-210, 2003.
34. MARTYNIUK, P.; ROGALSKI, A. Quantum-dot infrared photodetectors: status and outlook. **Progress in Quantum Electronics**, v. 32, p. 89-120, 2008.
35. KUNO, M. **Introductory nanoscience**. New York: Garland Science, 2011.
36. TOWE, E.; PAN, D. Semiconductor quantum-dot nanostructures: Their application in a new class of infrared photodetectors. **IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics**, v. 6, p. 408-421, 2000.
37. JACAK, L.; HAWRYLAK, P.; WOJS, A. **Quantum dots**. 1998.
38. WILLIAMSON, A. J. Energy states in quantum dots. In: BOROVIKSKAYA, E.; SHUR, M. S. **Quantum dots**. 2002. (Selected topics in electronics and systems, v. 25).
39. HAWRYLAK, P.; KORKUSINSKI, M. Electronic properties of self-assembled quantum dots. In: MICHLER, P. **Single quantum dots: Fundamentals, applications and new concepts**. 2003. p. 25-92. (Topics in Applied Physics, v. 90).
40. STIFF-ROBERTS, A. D. Quantum-dot infrared photodetectors: a review. **Journal of Nanophotonics**, v. 3, 2009.
41. KRISHNA, S. Quantum dots-in-a-well infrared photodetectors. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 38, 2005.
42. BARTH, A. Infrared spectroscopy of proteins. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v. 1767, p. 1073-1101, 2007.
43. KRIM, S.; BANDEKAR, J. Vibrational spectroscopy and conformation of peptides, polypeptides and proteins. **Advances in Protein Chemistry**, v. 38, p. 181-364, 1986.
44. BERTHOMIEU, C.; HIENERWADEL, R. Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. **Photosynthesis Research**, v. 101, p. 157-170, 2009.
45. ISMAIL, A. A.; VAN DE VOORT, F. R.; SEDMAN, J. Fourier transform infrared spectroscopy: Principles and applications. In: PARÉ, J. R. J.; BÉLANGER, J. M. R. **Instrumental methods in food analysis**. 1997.

- Cap. 4, p. 93-139. (Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry, v. 18).
46. NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Principles of biochemistry**. 6. ed. New York: W. H. Freeman and Company, 2013.
 47. DALTON, D. R. **Foundations of organic chemistry**: Unity and diversity of structures, pathways and reactions. Hoboken: Wiley, 2011.
 48. CHANG, R.; GOLDSBY, K. A. **Química**. Tradução de M. Pinho. 11. ed. Porto Alegre: AMGH Editora.
 49. CURLEY, D. M. et al. Changes in the secondary Structure of bovine casein by Fourier Transform Infrared Spectroscopy: Effects of calcium and temperature. **Journal of Dairy Science**, v. 81, p. 3154–3162, 1998.
 50. VAN DER VEN, C. et al. FTIR spectra of whey and casein hydrolysates in relation to their functional properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 6943-6950, 2002.
 51. JUNG, C. Insight into protein structure and protein–ligand recognition by Fourier transform infrared spectroscopy. **Journal of Molecular Recognition**, v. 13, p. 325-351, 2000.
 52. THERMO SCIENTIFIC. **A tutorial on spectral resolution for the Nicolet iS5 FT-IR spectrometer**, 2013. Disponível em: <[http://www.thermo scientific.com/content/dam/tfs/ATG/CAD/CAD%20Documents/Application%20&%20Technical%20Notes/Molecular%20Spectroscopy/FTIR/FTIR%20Spectrometers/TN52535-E%200913M-Spectral%20Res-H.pdf](http://www.thermoscientific.com/content/dam/tfs/ATG/CAD/CAD%20Documents/Application%20&%20Technical%20Notes/Molecular%20Spectroscopy/FTIR/FTIR%20Spectrometers/TN52535-E%200913M-Spectral%20Res-H.pdf)>. Acesso em: dez. 2015.
 53. SMITH, B. C. **Fundamentals of fourier transform infrared spectroscopy**. Boca Raton: CRC Press, 1996.
 54. SAPTARI, V. **Fourier-transform spectroscopy instrumentation engineering**. Washington: SPIE Press, 2004.
 55. PETHIG, R. R.; SMITH, S. **Introduction to bioelectronics**: For engineers and physical scientists. Hoboken: John Wiley & Sons, 2012.
 56. ATKINS, P.; DE PAULA, J. **Atkins' physical chemistry**. 10. ed. Oxford: Oxford University Press, 2014.
 57. RAHMELOW, K.; HUBNER, W. Infrared spectroscopy in aqueous solution: Difficulties and accuracy of water subtraction. **Applied Spectroscopy**, v. 51, p. 160-170, 1997.
 58. PERKINS, W. D. Sample handling in infrared spectroscopy - An overview. In: COLEMAN, P. B. **Practical sampling techniques for infrared analysis**. Boca Raton: CRC Press, 1993. Cap. 2, p. 11-54.
 59. AERNOUTS, B. et al. Mid-infrared spectrometry of milk for dairy metabolomics: A comparison of two sampling techniques and effect of homogenization. **Analytica Chimica Acta**, v. 705, p. 88-97, 31 out. 2011.
 60. CHALMERS, J. M. Mid-infrared spectroscopy: anomalies, artifacts and common errors. In: CHALMERS, J. M.; GRIFFITHS, P. R. **Handbook of vibrational spectroscopy**. 2006.

61. PERKIN ELMER. **Obtaining optimum reproducibility for FT-IR measurements in ZnSe liquid transmission cells.** Nota técnica. Disponível em: < http://www.perkinelmer.com/CMSResources/Images/44-74845TCH_FTIRMeasurementsinLiquidTransmissionCells.pdf>.
62. PISTORIUS, A. M. A.; DEGRIP, W. J. Deconvolution as a tool to remove fringes from an FT-IR spectrum. **Vibrational Spectroscopy**, v. 36, p. 89 - 95, 2004.
63. ALVARENGA, D. **A study on the physical properties of quantum dot structures for infrared photodetection.** 2011. Tese (Doutorado) - Instituto de ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.
64. PENELLO, G. **Crescimento e estudo de fotodetectores de infravermelho de pontos quânticos acoplados com poços quânticos parabólicos.** 2009. 157f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Física, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.
65. SOUZA, P. L. et al. Quantum dot structures grown on Al containing quaternary material for infrared photodetection beyond 10µm. **Applied Physics Letters**, v. 90, p. 173510, 2007.
66. MARTENS, H.; NIELSEN, J. P.; ENGELSEN, S. B. Light scattering and light absorbance separated by extended multiplicative signal correction. application to near-infrared transmission analysis of poder mixtures. **Analytical Chemistry**, v. 75, p. 394 - 404, 2003.
67. FAGGIN, M. F.; HINES, M. A. Improved algorithm for the suppression of interference fringe. **Review of Scientific Instruments**, v. 75, 2004.
68. WETZEL, D. L. B. Analytical near infrared spectroscopy. In: WETZEL, D. L. B.; CHARALAMBOUS, G. **Developments in food science.** v. 39, 1998. p. 141 - 194.
69. NIST - NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECHNOLOGY. **Livro de Química do NIST na Web.** Disponível em: <<http://webbook.nist.gov/chemistry/>>. Acesso em: nov. 2015.
70. WANG, J. et al. Characterization of casein hydrolysates derived from enzymatic hydrolysis. **Chemistry Central Journal**, v. 7, 2013.
71. STUART, B. H. **Infrared spectroscopy: Fundamentals and applications.** Chichester: John Wiley & Sons, 2004.
72. DEGANI, M. H.; MAIALLE, M. Z. Numerical calculations of the quantum states in semiconductor nanostructures. **Journal of Computational and Theoretical Nanoscience**, v. 7, p. 454-473, 2010.