



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Instituto de Física *Gleb Wataghin*

ANDRÉ HERNANDES ALVES MALVAZI

Projeto e fabricação de sondas neurais baseadas em MEMS

CAMPINAS

2016



Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Física *Gleb Wataghin*

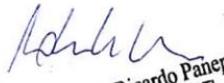
ANDRÉ HERNANDES ALVES MALVAZI

PROJETO E FABRICAÇÃO DE SONDAS NEURAIAS BASEADAS EM MEMS

*Dissertação apresentada ao Instituto de Física
“Gleb Wataghin” da Universidade Estadual de
Campinas como parte dos requisitos exigidos
para obtenção do título de Mestre em Física*

Orientador: Prof. Dr. Roberto Ricardo Panepucci

Coorientador: Prof. Dr. Roberto José Maria Covolan


Roberto Ricardo Panepucci
Chefe DCSH/CTI
Reg. SIAPE 17115578

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA
DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PELO ALUNO ANDRÉ
HERNANDES ALVES MALVAZI, E ORIENTADA PELO
PROF. DR. ROBERTO RICARDO PANEPUCCI

CAMPINAS

2016

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): CNPq, 131435/2013-2; FAPESP, 2013/07559-3

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Física Gleb Wataghin
Valkíria Succi Vicente - CRB 8/5398

M291p Malavazi, André Hernandes Alves, 1991-
Projeto e fabricação de sondas neurais baseadas em MEMS / André
Hernandes Alves Malavazi. – Campinas, SP : [s.n.], 2016.

Orientador: Roberto Ricardo Panepucci.
Coorientador: Roberto José Maria Covolan.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de
Física Gleb Wataghin.

1. Sondas neurais. 2. Sistemas microeletromecânicos. 3. BioMEMS. 4.
Microfabricação. 5. Microeletrodos. I. Panepucci, Roberto Ricardo. II. Covolan,
Roberto José Maria, 1955-. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de
Física Gleb Wataghin. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Project and fabrication of MEMS based neural probes

Palavras-chave em inglês:

Neural probes

Microelectromechanical systems

BioMEMS

Microfabrication

Microelectrodes

Área de concentração: Física

Titulação: Mestre em Física

Banca examinadora:

Roberto Ricardo Panepucci [Orientador]

Luciene Covolan

Antonio Riul Junior

Data de defesa: 23-02-2016

Programa de Pós-Graduação: Física



MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE ANDRÉ HERNANDES ALVES MALAVAZI - RA 090379 APRESENTADA E APROVADA AO INSTITUTO DE FÍSICA “GLEB WATAGHIN”, DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, EM 23 / 02 / 2016.

COMISSÃO JULGADORA:

- Prof. Dr. Roberto Ricardo Panepucci – Orientador – CTI
- Profa. Dra. Luciene Covolan – DF/UNIFESP
- Prof. Dr. Antonio Riul Junior – DFA/IFGW/UNICAMP

OBS.: Informo que as assinaturas dos respectivos professores membros da banca constam na ata de defesa já juntada no processo vida acadêmica do aluno.

CAMPINAS

2016

Dedico este trabalho à minha família e namorada.

Sem vocês nada seria possível.

“We are survival machines – robot vehicles blindly programmed to preserve the selfish molecules known as genes. This is a truth which still fills me with astonishment.”

Richard Dawkins, *The Selfish Gene*

Agradecimentos

Gostaria de agradecer ao CNPq e FAPESP (CEPID BRAINN) pelo apoio financeiro. Aos meus orientadores Prof. Dr. Roberto R. Panepucci e Prof. Dr. Roberto J. M. Covolán, pela orientação e oportunidade oferecida. Agradeço ao IFGW pela infraestrutura, à secretaria de pós-graduação e à APGF pelo suporte. Agradeço à Graça Almeida e Elaine Von Zuben por todo o apoio técnico fora e dentro da sala limpa. Agradeço ao Fernando Ely e Michele Silva por fornecerem os equipamentos necessários para caracterização eletroquímica. Agradeço ao Carlos Bortoloto pelo suporte durante várias etapas do projeto. Agradeço à Marcia Finardi pela assistência, amizade e paciência durante nosso aprendizado. Agradeço ao Ângelo Gobbi pelos serviços realizados. Agradeço a todos do Laboratório Multiusuários do IFGW (Lamult), Centro de Componentes Semicondutores (CCS), Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano - CNPEM) e Centro de Tecnologia da Informação *Renato Archer* (CTI). Agradeço ao André Vieira pelo aprendizado e nos deixar acompanhar as cirurgias. Agradeço à todos do Instituto do Cérebro (UFRN), em especial ao Richardson Leão, George Nascimento e toda equipe do Laboratório de Neurodinâmica, em particular ao Thawann Malfatti. Agradeço a todos meus amigos dentro e fora da Unicamp. Em especial agradeço Jesus Arbey, pelo companherismo durante todo este trabalho e pela grande amizade. Agradeço à minha querida namorada Paula e toda sua família, por me aceitarem e me fazer feliz. Por fim, agradeço a toda minha família, minha mãe Lilian, meu pai Jefferson, minha avó Beatriz e meu irmão Arthur pelo apoio incondicional, por cuidarem de mim e me educarem de forma excepcional. Obrigado a todos.

Resumo

O crescimento acelerado de novas tecnologias tem impactado os mais variados campos das ciências puras e aplicadas. Por outro lado, avanços e descobertas científicas tem suscitado o desenvolvimento de novos instrumentos de pesquisa. A tecnologia MEMS (*Microelectromechanical Systems*), por exemplo, tem sido largamente empregada nas áreas biológica e biomédica, estabelecendo o campo conhecido atualmente como BioMEMS. Dada a natureza de sua escala e suas propriedades intrínsecas, microdispositivos vêm sendo utilizados desde sistemas microfluídicos para administração de drogas até biosensores para monitoramento médico. Em particular, suas características são de fundamental interesse para a neurociência. A contínua necessidade do desenvolvimento de dispositivos biomédicos implantáveis vem definindo as áreas de neuroengenharia e neurotecnologia. Neste contexto, sondas neurais são microdispositivos implantáveis capazes de estabelecer uma conexão entre o tecido nervoso e sistemas externos, permitindo tanto o registro quanto estímulo da atividade neuronal. Tradicionalmente, estes dispositivos foram desenvolvidos em silício, entretanto, mais recentemente sondas poliméricas têm sido amplamente investigadas, dada sua flexibilidade e biocompatibilidade. Este trabalho visou o entendimento e estabelecimento da tecnologia de projeto, microfabricação e caracterização de sondas neurais poliméricas de SU-8 para o registro *in vivo* da atividade neural de modelos animais. A diversidade nas dimensões e configurações das regiões de interesse no cérebro de distintos modelos requer sondas com diferentes configurações, para isso foi elaborado uma metodologia de design paramétrico de sondas neurais, a partir de uma geometria base. O *script* produzido permite modificações e adaptações rápidas dos projetos, mediante a alteração de um número definido de parâmetros. O método de fabricação utilizado permitiu o desenvolvimento de protótipos pequenos, flexíveis e funcionais com sucesso. Como demonstração, quatro modelos de sondas neurais com diferentes dimensões foram projetadas, produzidas e empacotadas, fazendo-se uso de diferentes metais (TiN, Ti, Ti/Au e Cr/Au). Além disso, sondas de Ti/Au foram submetidas à processos de caracterização, com intuito de avaliar suas propriedades eletroquímicas. Assim, foram constatadas a região de potencial para o qual o dispositivo pode ser utilizado para estímulo neural com segurança, e os valores de sua impedância para diferentes frequências. Em particular para $f = 1$ kHz foi obtido uma impedância média de $(26,6 \pm 5,5)$ k Ω , considerada ideal para o registro da atividade elétrica de neurônios individuais. Por fim, sondas neurais de Ti/Au e Ti com Au eletrodepositado foram empregadas com sucesso para o registro *in vivo* de camundongos em experimentos de optogenética.

Abstract

The rapid growth of new technologies is impacting several fields of pure and applied sciences. On the other hand, advances and scientific discoveries have induced the development of new research instruments. MEMS (Microelectromechanical Systems) technology, for example, has been widely employed in the biological and biomedical areas, setting the field currently known as BioMEMS. Given the nature of its scale and its intrinsic properties, micro devices have been used from microfluidic systems for drug delivery to biosensors for medical monitoring. In particular, its features are of fundamental interest to neuroscience. The continuous need for the development of implantable biomedical devices has been setting the neuroengineering and neurotechnology areas. In this context, neural probes are implantable microdevices capable to establish a connection between the nervous tissue and external systems, allowing both the registration and stimulation of neuronal activity. Traditionally, these devices have been developed with silicon, however more recently polymeric probes has been widely investigated due to its flexibility and biocompatibility. This work aimed the understanding and establishment of the technology of design, microfabrication and characterization of polymeric SU-8 neural probes for *in vivo* recording of neural activity in animal models. The diversity in the dimensions and configurations of the brain's regions of interest of different models requires probes with different configurations. It was developed a parametric design methodology of neural probes, from a base geometry. The created script allows modifications and faster adaptations of projects by changing the settings of a defined number of parameters. The manufacturing method used allowed the successful development of small, flexible and functional prototypes. As a demonstration, four models of neural probes with different dimensions were designed, produced and packaged, making use of different metals (TiN, Ti, Ti/Au and Cr/Au). In addition, Ti/Au probes were subjected to characterization processes, in order to assess their electrochemical properties. Thus, it was found the potential region to which the device can be safely used for neural stimulation, and their impedance values for different frequencies. Particularly for $f = 1$ kHz it was obtained an average impedance of $(26.6 \pm 5.5) \text{ K}\Omega$, considered ideal for recording the electrical activity of individual neurons. Finally, Ti/Au and Ti with electroplated Au neural probes were successfully employed to *in vivo* mice registration in optogenetics experiments.

Lista de Ilustrações

Figura 1.1: Sonda neural típica. Microeletrodos distribuídos ao longo do dispositivo.....	25
Figura 1.2: Sondas neurais com diferentes funcionalidades. (A) Sonda neural com canal microfluídico. Imagem adaptada de [13]; (B) Sonda neural com detectores químicos. Imagem adaptada de [14]; (C) Sonda neural com guia de onda. Imagem adaptada de [15].....	25
Figura 1.3: Sondas neurais de silício; (A) Sonda de <i>Michigan</i> . Imagem adaptada de [19]; (B) Sonda de <i>Utah</i> . Imagem adaptada de [12].....	26
Figura 1.4: Sondas neurais poliméricas. (A) Sonda neural de poliimida. Imagem adaptada de [22]; (B) Sonda neural de BCB. Imagem adaptada de [25]; (C) Sonda neural de parylene. Imagem adaptada de [26]; (D) Sonda neural de SU-8. Imagem adaptada de [27].....	27
Figura 1.5: Diferentes sondas neurais de SU-8. (A) Imagem adaptada de [21]; (B) Imagem adaptada de [32]; (C) Imagem adaptada de [21].	28
Figura 2.1: Processos de corrosão. A magnitude das setas são proporcionais às taxas de corrosão. (A) Corrosão anisotrópica; (B) Corrosão isotrópica.....	31
Figura 2.2: Exemplo de um processo usual de <i>surface micromachining</i> . (I) Deposição da camada sacrificial; (II) Definição do padrão desejado; (III) Deposição do primeiro material estrutural; (IV) Deposição do segundo material estrutural; (V) Corrosão da camada sacrificial.	32
Figura 2.3: Processo de fotolitografia (I) Deposição do fotorresiste; (II) Exposição da área desejada; (III) Revelação da área exposta.....	35
Figura 2.4: Máscaras litográficas com diferentes polaridades. A região clara permite a passagem da radiação UV enquanto a região escura não. (A) Máscara campo Claro; (B) Máscara campo escuro.....	36
Figura 2.5: Fotolitografia com diferentes tipos de resiste. (A) Resiste positivo; (B) Resiste negativo.	37

Figura 2.6: Processo de inversão de imagem (I) Exposição do resiste; (II-a) Modo positivo. Revelação da área exposta; (II-b) Cozimento de inversão de imagem; (III) Exposição de toda a amostra; (IV) Revelação.....	38
Figura 2.7: Processo de <i>spin-coating</i> em um <i>spinner</i>	40
Figura 2.8: Padronização do material depositado. (A) Método usual. Deposição do material desejado sob o substrato; transferência do padrão; corrosão e eliminação do resiste; (B) <i>Lift-off</i> . Padronização do resite; Metalização; Eliminação do resiste.....	43
Figura 3.1: Diferentes formas de neurônios. Imagem adaptada de [51]	46
Figura 3.2: Diferentes concentrações iônicas nos meios extra e intracelular.....	49
Figura 3.3: Ilustração de um formato típico de um potencial de ação.	49
Figura 4.1: Ciclo de desenvolvimento de dispositivos.....	52
Figura 4.2: Geometria básica de uma sonda neural derivada da sonda de <i>Michigan</i> . Regiões de conexão e inserção.	53
Figura 4.3: Estrutura hierárquica do <i>IPKISS</i> . Imagem adaptada de [54].	54
Figura 4.4: (A) <i>Script</i> produzido em <i>Python/IPKISS</i> ; (B) Design resultante; (C) Matriz de sondas neurais. Imagens visualizadas pelo <i>KLayout</i>	54
Figura 4.5: Modelos produzidos com diferentes parâmetros.	55
Figura 4.6: Exemplos de <i>layouts</i> de máscara litográfica.....	55
Figura 4.7: Protocolo de fabricação de sondas neurais de SU-8; (I) Substrato de trabalho (Si/vidro); (II) Deposição de camada sacrificial (Al, ≈ 200 nm); (III) Deposição de SU-8 2 ($\approx 200 - 1500$ nm); (IV) Fotolitografia com o primeiro nível do dispositivo para definição da geometria da sonda e seus elementos; (V) Revelação do SU-8 não exposto; (VI) Deposição do fotorresiste AZ 5214; (VII) Processo de inversão de imagem com segundo nível para definição dos conectores, trilhas e microeletrodos; (VIII) Revelação do fotorresiste; (IX) Deposição do material condutor; (X) Processo de <i>lift-off</i> ; (XI) Deposição de SU-8 50; (XII) Fotolitografia com o terceiro nível para definição do perfil do dispositivo; (XIII) Revelação	

do SU-8 não exposto; (XIV) Corrosão da camada sacrificial para permitir a remoção do dispositivo; (XV) Sonda neural finalizada. 57

Figura 4.8: Projeto e fabricação dos protótipos dos PCB's. (A) Projeto computacional. Imagem cedida por Carlos Bortoloto; (B) Fresagem das placas. 58

Figura 4.9: Equipamentos para caracterização eletroquímica. (A) Representação da célula eletroquímica montada. WE: *working electrode* (eletrodo de trabalho). RE: *reference electrode* (eletrodo de referência). CE: *counter electrode* (contra eletrodo). Imagem cedida por Jesus Arbey; (B) Potenciostato utilizado. 60

Figura 5.1: Diferentes exemplos de designs de sondas neurais produzidos pelo *script*. Dispositivos fora de escala. 63

Figura 5.2: Produção do perfil da sonda neural. (A) Fragmento da primeira parte do *script* produzido; (B) Design produzido. 63

Figura 5.3: Produção da sonda neural. (A) Fragmento da segunda parte do *script* produzido; (B) Design produzido. 64

Figura 5.4: Produção da matriz de sondas neurais. (A) Fragmento da terceira parte do *script* produzido; (B) Design produzido. 64

Figura 5.5: (A) Modelos de sondas neurais fabricadas (a. - d.); (B) Principais dimensões dos dispositivos. 65

Figura 5.6: *Layout* e máscara para sonda neural modelo a. contendo os três níveis litográficos. (A) *Layout* gerado; (B) Máscara produzida. 68

Figura 5.7: *Layouts* e máscaras dos três níveis litográficos para sonda modelo a. (A) Primeiro nível: Definição do perfil das sondas neurais, conectores e microeletrodos; (B) Segundo nível: Definição dos conectores, trilhas e microeletrodos; (C) Terceiro nível: Definição do perfil das sondas neurais. 68

Figura 5.8: *Layouts* e máscaras dos três níveis litográficos para sondas modelos b., c., e d.. (A) Primeiro nível: Definição do perfil das sondas neurais, conectores e microeletrodos; (B) Segundo nível: Definição dos *pads*, trilhas e microeletrodos; (C) Terceiro nível: Definição do perfil das sondas neurais. 69

Figura 5.9: Tolerância introduzida ao <i>layout</i> das máscaras litográficas contendo as sondas neurais de modelos b. , c. e d. . Para o perfil dos dispositivos e <i>pads</i> de contato foram adicionados 10 μm , já para os microeletrodos foi inserido 1 μm	70
Figura 5.10: Definição do primeiro nível de SU-8 para dispositivos de modelo a. (etapa (V) – delimitação do perfil das sondas neurais). (A) Região de inserção e microeletrodos, depositado sob Al; (B) Região de conexão, depositado sob Al; (C) Região de inserção e microeletrodos, depositado sob vidro; (D) Região de conexão, depositado sob vidro.	72
Figura 5.11: Primeira camada de SU-8 exposta com doses distintas. (A) Microeletrodo (círculo amarelo) e marca de alinhamento (seta amarela) expostos a 10 mJ/cm^2 ; (B) Microeletrodo e marca de alinhamento expostos a 25 mJ/cm^2 ; (C) Microeletrodo e marca de alinhamento expostos a 40 mJ/cm^2 . É possível observar que em (A) o padrão desejado está perfeitamente definido, sem SU-8 residual.	72
Figura 5.12: Metalização e <i>lift-off</i> (etapa (X) , sonda modelo a.). (A) Trilhas e microeletrodos definidos com TiN; (B) Trilhas, conectores e microeletrodos definidos com Ti/Au.....	74
Figura 5.13: Possíveis danos associados ao <i>lift-off</i> . (A) Metalização em áreas indesejadas; (B) Reabsorção do metal e metalização em áreas indesejadas; (C) Danificação das áreas metalizadas; (D) Má definição dos padrões expostos; (E) Danificação das áreas metalizadas; (F) Reabsorção do metal.....	74
Figura 5.14: Erros de alinhamento entre os primeiro e segundo níveis. Nota-se a variabilidade da área efetiva dos microeletrodos. (D) Imagem cedida por <i>Jesus Arbey</i>	75
Figura 5.15: Dispositivos finalizados fixos ao substrato (etapa (XIII)). (A) Região de inserção e microeletrodos (TiN); (B) Trilhas e microeletrodos (TiN); (C) Microeletrodos. Imagem focada na primeira camada de SU-8 (TiN); (D) Microeletrodos. Imagem focada na segunda camada de SU-8 (TiN); (E) Conectores e trilhas (Cr/Au); (F) Região de inserção e microeletrodos (Cr/Au); (G) Microeletrodo (Cr/Au); (H) Microeletrodo (Ti).....	76
Figura 5.16: Erros de alinhamento entre as duas camadas de SU-8 (primeiro e terceiro níveis).	77
Figura 5.17: Dispositivos finalizados. (A) e (B) Região de inserção e microeletrodos (TiN); (C) Microeletrodos (TiN); (D) Microeletrodos (Cr/Au).	78

Figura 5.18: Microscopia eletrônica de uma sonda neural (modelo a. , TiN). (A) Ponta da região de inserção e microeletrodos; (B) Imagem do lado inferior; (C) Interface entre as regiões de conexão e inserção.	78
Figura 5.19: (A) Corrosão da camada sacrificial com KOH; (B) Sondas neurais liberadas; (C) <i>Wafer</i> restante.	79
Figura 5.20: (A) Amostras submetidas ao processo de liberação dos dispositivos. É possível notar sondas neurais ainda presas ao substrato; (B) <i>Pads</i> que mantiveram-se sob o substrato após liberação das sondas neurais com água corrente.	81
Figura 5.21: Imagens obtidas após liberação de sondas neurais de Cr/Au. (A) Cr dos microeletrodos retidos ao substrato; (B) Cr dos <i>pads</i> retidos ao substrato; (C) Cr e uma pequena parte de Au sob o substrato; (D) <i>Pads</i> danificados de uma sonda neural após a execução do processo.	81
Figura 5.22: Sondas neurais de Cr/Au após o processo de liberação. (A) <i>Pad</i> de Cr. Nota-se que em pequenas regiões o Cr permaneceu no substrato, tornando possível observar o Au; (B) <i>Pad</i> de Au; (C) Microeletrodo de Cr; (D) Microeletrodo de Au.	82
Figura 5.23: Sondas neurais produzidas. (A) Sonda modelo a. ; (B) Sonda modelo d. . Flexibilidade das sondas neurais de SU-8.	83
Figura 5.24: Diferentes modelos de sondas neurais produzidas.	83
Figura 5.25: Evolução das diferentes versões de PCB's projetadas durante o desenvolvimento deste trabalho. Imagens cedidas por Carlos Bortoloto.	85
Figura 5.26: Protótipos de PCB's fabricados. Moeda utilizada para escala.	85
Figura 5.27: (A) Design da última versão de PCB projetado. Imagem cedida por Carlos Bortoloto; (B) PCB's fabricados para os quatro modelos de sondas neurais. Modelos a. e b. para <i>flip-chip</i> , e modelos c. e d. para <i>wire bonding</i>	86
Figura 5.28: Sonda neural acoplada a um PCB.	86

Figura 5.29: Sonda neural de modelo a. microsoldada ao PCB. (A) PCB com sonda acoplada; (B) Vista aproximada do dispositivo. É possível notar a curvatura indejada da sonda neural.	87
Figura 5.30: (A) Pasta condutora de prata aplicada sobre os <i>pads</i> ; (B) Pasta condutora de prata aplicada sobre os <i>pads</i> e trilhas, e a microsolda efetuada entre ambos.	87
Figura 5.31: Sondas neurais de modelo a. microsoldadas aos PCB's. Imagem tirada após deposição da resina isolante.	88
Figura 5.32: Placas de circuito impresso. (A) PCB antes a solda dos pinos; (B) PCB após solda dos pinos.	88
Figura 5.33: Diferentes modelos de sondas neurais empacotadas.	89
Figura 5.34: (A) Sondas empacotadas com fios acoplados; (B) Célula eletroquímica.....	90
Figura 5.35: Célula eletroquímica acoplada ao potenciostato.....	90
Figura 5.36: Evolução das gaiolas de <i>Faraday</i> implementadas durante o processo de caracterização.	91
Figura 5.37: Potencial (V) X Densidade de Corrente ($\text{nA}/\mu\text{m}^2$). Voltograma de uma sonda neural de modelo a. de Ti/Au, com taxa de varredura de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, no intervalo entre -1,4 – 0,8 V. Os microeletrodos foram nomeados de M 1 a M 8	92
Figura 5.38: Potencial (V) X Densidade de Corrente ($\text{nA}/\mu\text{m}^2$). Voltogramas para o microeletrodo M 1 de uma sonda neural de modelo a. de Ti/Au. (A) Medida com taxa de varredura de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, no intervalo entre -1,5 – 1,0 V; (B) Medida com taxa de varredura de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, no intervalo entre -0,8 – 0,0 V	92
Figura 5.39: Potencial (V) X Densidade de Corrente ($\text{nA}/\mu\text{m}^2$). Voltograma de uma sonda neural de modelo a. de Ti/Au, com diferentes taxas de varredura, no intervalo entre -1,45 – 0,6 V para o microeletrodo M 1	93
Figura 5.40: Impedância X Frequência.	93
Figura 5.41: Teste mecânico de uma sonda neural (destacado) em cadáver de rato.....	95

Figura 5.42: Experimento de optogenética em camundongo com sonda neural de modelo a. e Ti/Au.....	96
Figura 5.43: Experimento de optogenética em camundongo com sonda neural comercial (NeuroNexus).	96
Figura 5.44: Corte histológico do cérebro de camundongo utilizado para o experimento de optogenética. (A) Rastro da fibra óptica; (B) Rastro da sonda neural. Imagem cedida pelo Prof. Richardson Leão e Thawann Malfatti.....	97
Figura 5.45: <i>Spike sorting</i> do sinal obtido com a sonda neural de SU-8. Imagem cedida pelo Prof. Richardson Leão.	98
Figura 5.46: Sinal obtido com a sonda neural comercial de Si (NeuroNexus). (A) Canais danificados; (B) Área observada em outra escala; (C) Artefato óptico. Imagem cedida pelo Prof. Richardson Leão.	98
Figura 5.47: Sinal obtido com a sonda neural de SU-8. (A) Área observada em outra escala. Imagem cedida pelo Prof. Richardson Leão.....	99
Figura 5.48: Espectro de potência dos sinais obtidos com as sondas neurais de SU-8 e comercial de Si (NeuroNexus). Imagem cedida pelo Prof. Richardson Leão.....	99
Figura 5.49: Adaptação realizada para acoplamento das sondas neurais no sistema de registro.....	100
Figura A.1: Espessura X RPM para diferentes diluições de SU-8 2.....	112

Lista de Tabelas

Tabela 1.1: Comparação dos diferentes polímeros utilizados como estruturas de sondas neurais. Tabela adaptada de [21].	28
Tabela 2.1: Performance de diferentes materiais utilizados como substratos. Tabela adaptada de [36].	33
Tabela 2.2: Diferenças entre os resistes positivos e negativos. Tabela adaptada de [36].	37
Tabela 2.3: Comparação entre os métodos de evaporação e <i>sputtering</i> . Tabela adaptada de [36].	41
Tabela 2.4: Comparação entre os métodos de corrosão úmida e seca. Tabela adaptada de [36].	43
Tabela 5.1: Especificações das sondas neurais, modelos a. – d.	66
Tabela 5.2: Sumário dos materiais utilizados para os diferentes modelos de sondas neurais.	84
Tabela A.1: Doses utilizadas para os diferentes substratos.	111
Tabela A.2: Espessura de SU-8 2 obtida com diferentes rotações, sem diluição. Dados fornecidos pelo <i>datasheet</i> [50].	112
Tabela A. 3: Espessura de SU-8 50 obtida com diferentes rotações. Dados fornecidos pelo <i>datasheet</i> [51].	114
Tabela A. 4: Doses utilizadas para os diferentes substratos.	115

Sumário

1. Introdução.....	21
1.1. MEMS.....	21
1.1.1. BioMEMS	22
1.2. Biocompatibilidade	23
1.3. Sondas neurais	23
1.3.1. Sondas neurais de silício	25
1.3.2. Sondas neurais poliméricas	26
1.3.3. Sondas neurais de SU-8.....	27
2. Microfabricação	29
2.1. Tecnologia de microfabricação.....	29
2.1.1. <i>Top-down e Bottom-up</i>	29
2.1.2. <i>Bulk Micromachining</i>	30
2.1.3. <i>Surface Micromachining</i>	31
2.1.4. Substratos	33
2.1.4.1. Silício.....	33
2.1.4.2. Vidro.....	34
2.2. Processos de microfabricação	34
2.2.1. Litografia.....	35
2.2.1.1. Fotolitografia	35
2.2.1.1.1. Máscaras litográficas	36
2.2.1.1.2. Fotorresiste.....	37
2.2.2. Deposição	39
2.2.2.1. <i>Spin-coating</i>	39
2.2.2.2. Deposição física por vapor (PVD).....	40
2.2.2.2.1. Evaporação.....	40

2.2.2.2.2.	<i>Sputtering</i>	41
2.2.2.3.	Eletrodeposição	41
2.2.3.	Corrosão	42
2.2.4.	<i>Lift-off</i>	43
3.	O sistema nervoso e o potencial de ação.....	44
3.1.	O sistema nervoso	44
3.1.1.	Sistema Nervoso Central (SNC)	45
3.1.2.	Sistema Nervoso Periférico (SNP).....	45
3.1.3.	Neurônio.....	46
3.1.4.	Gliócitos	47
3.2.	Potencial de ação	48
4.	Metodologia	51
4.1.	Design	52
4.1.1.	Geometria das sondas neurais	52
4.1.2.	Metodologia de design	53
4.1.3.	Máscaras litográficas.....	55
4.2.	Fabricação.....	56
4.3.	Empacotamento	58
4.4.	Caracterização.....	59
4.5.	Aplicações práticas	60
4.6.	Infraestrutura.....	60
5.	Resultados e Discussão	62
5.1.	Design	62
5.1.1.	<i>Script</i> desenvolvido.....	62
5.1.2.	Modelos produzidos	65
5.1.3.	Máscaras litográficas.....	66
5.2.	Fabricação	71

5.3. Empacotamento	84
5.4. Caracterização.....	89
5.5. Aplicações práticas	94
6. Conclusão	102
6.1. Perspectivas	104
7. Referências.....	106
Apêndice A.....	110
A.1 SU-8.....	110
A.1.1 SU-8 2.....	110
A.1.2 SU-8 50.....	113
A.2 Fotorresiste AZ 5214	114
A.2.1 Inversão de Imagem.....	114
Apêndice B	116
B.1 Trabalhos apresentados.....	116
B.2 Prêmios	117

1. Introdução

1.1. MEMS

MEMS (*Microelectromechanical Systems*) refere-se tanto à tecnologia de microfabricação quanto a dispositivos na escala micrométrica. Além disso, é comum serem denominados também como *Micromachines* ou *Microsystems Technology* (MST) [1]. As dimensões associadas a tecnologia MEMS podem variar de alguns milímetros até valores abaixo de um micron, e tais dispositivos são geralmente constituídos por componentes com propriedades mecânicas, elétricas, ópticas ou químicas, de forma a funcionar como sensores ou atuadores. Podem ser fabricados desde elementos simples até geometrias complexas com estruturas móveis em três dimensões, desta forma, é possível produzir dispositivos com as mais diversas funcionalidades. O desenvolvimento desta tecnologia está intimamente ligada ao progresso da indústria de semicondutores, as técnicas e tecnologias de microfabricação são derivadas dos processos usualmente utilizados para a fabricação de circuitos integrados (CI's), denominado de tecnologia CMOS. Permitindo, assim, a possibilidade de estabelecer um acoplamento entre microdispositivos e circuitos integrados em um mesmo *chip*. Essa compatibilidade pode ser explorada para o desenvolvimento de novos tipos de dispositivos, com diferentes funcionalidades. Dentre a grande variedade de processos de fabricação, a litografia, corrosão e deposição de filmes finos representam a base da metodologia de desenvolvimento de microdispositivos. Neste contexto, a indústria da tecnologia MEMS progrediu, majoritariamente, com o uso do silício (Si) como substrato padrão, dado o grande conhecimento acumulado sobre o silício e métodos de fabricação neste substrato obtidos por décadas de pesquisas em microeletrônica [1]. Atualmente, estes processos são empregados para a fabricação de milhares de dispositivos simultaneamente.

Além do grande potencial econômico, a importância da tecnologia MEMS é facilmente constatada, o crescimento acelerado dessas novas tecnologias tem tido grande impacto nos mais variados campos das ciências puras e aplicadas. Por outro lado, avanços e descobertas científicas tem suscitado o desenvolvimento de novos instrumentos. As características intrínsecas de microdispositivos e dos processos de microfabricação são de grande interesse para uma grande variedade de aplicações. Os processos empregados garantem alta uniformidade, reprodutibilidade e maior rendimento de produção em relação a

fabricação usual. Além disso, a escala característica possibilita o melhoramento de dispositivos existentes, adicionando novos atributos e funcionalidades, e o desenvolvimento de dispositivos portáteis, com alta sensibilidade e custo reduzido. Neste contexto, a tecnologia MEMS tem tido um grande impacto nas áreas biológicas e biomédicas.

1.1.1. BioMEMS

BioMEMS (*biological/biomedical Microelectromechanical Systems*) refere-se à tecnologia MEMS aplicada ao desenvolvimento de dispositivos voltados para as áreas biológicas e biomédicas. Nas últimas décadas BioMEMS vem sendo estabelecida como uma importante tecnologia emergente, dada a natureza multidisciplinar, o seu desenvolvimento é realizado pelo esforço de diferentes áreas de pesquisa. Atualmente existem diversos tipos de aplicações, que vão desde sensores para monitoramento médico até o desenvolvimento de novos materiais e dispositivos implantáveis [2]. Há ainda grande potencial para a produção de ferramentas com utilidade para biologia molecular, bioquímica, biologia celular, medicina e neurociências [3]. Sistemas microfluídicos, em particular, são comumente utilizados em várias aplicações desta tecnologia (PCR - do inglês *Polymerase Chain Reaction*, crescimento celular e etc). Os dispositivos são fabricados pelas técnicas e tecnologias usuais de microfabricação. Para seu desenvolvimento são comumente utilizados diferentes tipos de materiais, tais como Si, vidro, polímeros, e até materiais biológicos, como células, tecido e proteínas [2, 3]. A escolha do material é fundamental para algumas aplicações, dispositivos implantáveis, por exemplo, necessitam de alta compatibilidade com o tecido biológico, visando maior integração com o meio em que serão inseridos.

De modo geral, BioMEMS em medicina podem ser divididos em sistemas de diagnóstico e de tratamento [4]. Sistemas para diagnóstico são capazes de detectar células, DNA, proteínas, vírus, microorganismos e pequenas moléculas de interesse. O volume necessário é muito pequeno, e o resultado possui alta precisão. O sensoriamento podem ser realizados de maneira mecânica, óptica e elétrica [2]. Já sistemas de tratamento podem ser utilizados para a administração de drogas, próteses ou monitoramento de parâmetros de natureza biológica, como nível de açúcar, pH ou pressão sanguínea. Microdispositivos implantáveis, em particular, tem grande potencial para auxiliar o desenvolvimento de novos tratamentos. Neste contexto, pesquisas em neurociências tem grande interesse no desenvolvimento de ferramentas para auxiliar o entendimento do cérebro. Dispositivos biomédicos implantáveis podem assistir o tratamento de diversos pacientes com transtornos

neurológicos, além disso, podem oferecer uma opção viável para métodos de reabilitação para reverter ou aliviar sintomas e, conseqüentemente, melhorar a qualidade de vida dos indivíduos. Dispositivos cocleares para deficientes auditivos [5, 6] e *deep-brain-stimulator* (DBS) para tratamento de doença de Parkinson [7] são exemplos de aplicações terapêuticas realizadas com sucesso.

1.2. Biocompatibilidade

A escolha do material para dispositivos implantáveis visando aplicações *in vivo* é fundamental para garantir sua funcionalidade em longo prazo. A biocompatibilidade é um parâmetro de extrema importância para a integração do dispositivo com um sistema biológico. O sensoriamento *in vivo* de modo contínuo por longos intervalos de tempo é um componente crítico para sistemas de monitoramento e administração de drogas [8]. É frequentemente observado o decaimento da qualidade dos dispositivos com o tempo de implante, mesmo materiais considerados biocompatíveis provocam algum tipo de resposta do tecido. Geralmente é induzido o encapsulamento do implante por um processo de inflamação, a espessura desta camada isolante pode estar entre 50–200 μm , e consiste de um tecido colagenoso avascular, com objetivo de inibir qualquer tipo de suplemento nutricional ao corpo estranho [9]. Esta resposta depende de inúmeros parâmetros, muitos deles associados ao próprio tecido já outros com o dispositivo implantado, como: tamanho, formato, elasticidade, resistência mecânica, rugosidade, carga superficial, estabilidade química e porosidade [9]. Entretanto, é possível aumentar a biocompatibilidade de um determinado dispositivo através da modificação de sua superfície, visto que é a região que mantém contato direto com o tecido. Isso pode ser alcançado por processos de tratamento químico ou deposição de uma camada biocompatível.

1.3. Sondas neurais

Os primeiros dispositivos utilizados para estudar a atividade elétrica neural foram as micropipetas de vidro e microfios [10, 11]. As micropipetas foram desenvolvidas na década de 20 e consistem de um tubo capilar de vidro com uma solução eletrolítica, e um fio de prata que estabelece a conexão entre a solução e o equipamento externo. O dispositivo é pressionado sobre a membrana do neurônio, permitindo o registro intracelular [11]. Já a tecnologia do microfio foi desenvolvido na década de 50, e consiste de um fio isolado,

geralmente com menos de 100 μm de diâmetro, com uma ponta metálica exposta [12], diferentes metais e isolantes podem ser utilizados. Embora ainda sejam utilizados, os microfios possuem somente uma região de registro, e a adição de mais eletrodos implica no aumento do tamanho do dispositivo. Além disso, a definição da área exposta muitas vezes é realizada de forma manual, com pouca reprodutibilidade. A partir do desenvolvimento da microeletrônica e da tecnologia MEMS, novas abordagens foram surgindo para o registro e estímulo da atividade neural.

A contínua necessidade do desenvolvimento de dispositivos biomédicos implantáveis para neurociências vem, mais recentemente, definindo as áreas da neuroengenharia e neurotecnologia. Novas e melhores ferramentas para eletrofisiologia tem grande impacto em diversas áreas, como neurologia, neurofisiologia, interface-cérebro-máquina, próteses neurais, etc. Neste contexto, sondas neurais são microdispositivos implantáveis capazes de estabelecer uma conexão entre o tecido nervoso e sistemas externos, permitindo tanto o registro quanto estímulo da atividade neuronal. Estes dispositivos permitem interagir com neurônios isolados ou grandes conjuntos neuronais de forma precisa, tanto *in vivo* quanto *in vitro* e constituem ferramentas com grande potencial para usos clínicos e como instrumentos de pesquisa e, além disso, podem ser aplicadas para usos agudos ou crônicos. De modo geral, sondas neurais baseadas em MEMS são constituídas por uma ou mais regiões implantáveis que contém as áreas de registro, e uma região que estabelece a interface com os equipamentos externos. Visando minimizar o dano causado no tecido durante a inserção e facilitar este processo, as sondas neurais possuem tipicamente um formato de agulha, como ilustrado na Figura 1.1. Além disso, existe uma constante necessidade de interagir com o maior número de neurônios possível de forma simultânea. Desta forma, geralmente as sondas neurais contém vários microeletrodos distribuídos ao longo da região de inserção. A tecnologia de microfabricação permite o controle preciso das dimensões dos dispositivos. Logo, pode-se obter sondas com comprimentos de algumas centenas de micrômetros até alguns milímetros, e com espessuras de algumas dezenas até centenas de micrômetros. Entretanto, as dimensões utilizadas variam conforme a aplicação desejada. Para atingir regiões mais profundas do cérebro, por exemplo, é necessário um comprimento adequado.

Dada a grande variedade de materiais e métodos de microfabricação, a tecnologia MEMS permite a adaptação dos dispositivos e inclusão de novas funcionalidades. Desta forma, visando aplicações específicas é possível adicionar sensores químicos, guias de onda e sistemas microfluídicos em um mesmo dispositivo. Além disso, através da integração de

tecnologia CMOS é possível incluir sistemas de processamento de dados e telemetria. A Figura 1.2 ilustra sondas neurais fabricadas com diferentes funcionalidades complementares. A escolha do material estrutural da sonda neural também é fundamental para o desempenho do dispositivo. É necessário um material com alta integração com o tecido nervoso a longo prazo e que seja compatível com as técnicas de microfabricação. Além disso, é esperado que seja rígido o suficiente para inserção no córtex e flexível o bastante para minimizar danos associados à movimentação do cérebro. Silício é o material mais utilizado para este fim, entretanto, mais recentemente materiais poliméricos tem sido considerados [12].

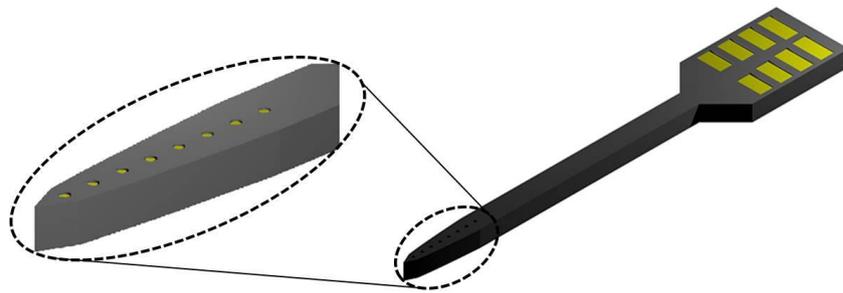


Figura 1.1: Sonda neural típica. Microeletrodos distribuídos ao longo do dispositivo.

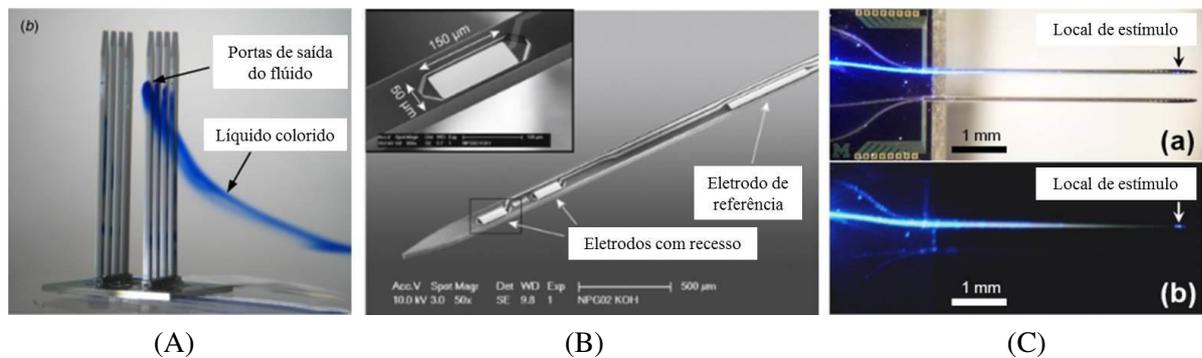


Figura 1.2: Sondas neurais com diferentes funcionalidades. (A) Sonda neural com canal microfluídico. Imagem adaptada de [13]; (B) Sonda neural com detectores químicos. Imagem adaptada de [14]; (C) Sonda neural com guia de onda. Imagem adaptada de [15].

1.3.1. Sondas neurais de silício

O silício é a escolha natural para a fabricação de novos dispositivos, visto que a grande maioria dos processos utilizados na tecnologia MEMS foi desenvolvida visando o uso deste material. Assim, as sondas neurais de silício são as mais comumente encontradas na

literatura [16,17,18] e comercialmente, além de representarem as primeiras sondas neurais desenvolvidas. Existem diversos designs fabricados para as mais variadas aplicações. As técnicas de microfabricação em Si, em particular *bulk micromachining*, permitem o desenvolvimento de uma grande quantidade de dispositivos simultaneamente, e com controle fino de suas dimensões. A alta reprodutibilidade dos processos e acurácia das técnicas possibilitou a superação dos problemas associados à fabricação dos dispositivos anteriores a estes (microfios) [12]. Ademais, circuitos podem ser integrados diretamente nas sondas com intuito de melhorar o processo de aquisição do sinal. A Figura 1.3 apresenta as famosas sondas de *Michigan* e *Utah*.

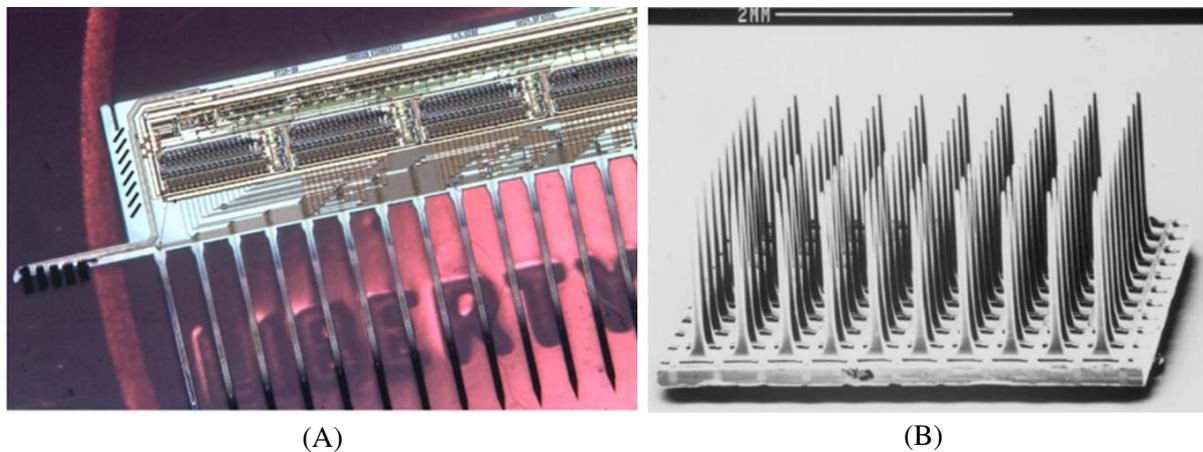


Figura 1.3: Sondas neurais de silício; (A) Sonda de *Michigan*. Imagem adaptada de [19]; (B) Sonda de *Utah*. Imagem adaptada de [12].

1.3.2. Sondas neurais poliméricas

Atualmente, sabe-se que as propriedades mecânicas do silício podem induzir dano ao tecido nervoso. Sua rigidez e fragilidade inviabilizam seu uso como implantes crônicos confiáveis [4, 20, 21]. Neste contexto, sondas neurais poliméricas surgiram como alternativas aos dispositivos de silício. Polímeros possuem melhor biocompatibilidade e maior flexibilidade, sendo, portanto, mais adequados para aplicações crônicas. Além disso, são compatíveis com vários processos de microfabricação, em particular com técnicas de *surface micromachining*. E, geralmente, as metodologias empregadas são mais simples. Diversos polímeros já foram utilizados com sucesso para fabricação de sondas neurais, como poliimida [22, 23, 24], BCB [25], parylene [26] e SU-8 [21, 27, 28, 29, 30, 31, 32]. A Figura 1.4 apresenta diferentes tipos de sondas neurais poliméricas. Os três primeiros possuem baixo

módulo elástico, tornando-os materiais adequados para se adaptar ao meio neural. Entretanto, são flexíveis demais para penetrar o tecido cerebral sem a adição de outros componentes, visto que os métodos de fabricação disponíveis para estes materiais impossibilitam a obtenção de espessuras acima de 10 μm . Além disso, a poliimida possui alta absorção de água, que pode induzir a diminuição da impedância a longo prazo [21].

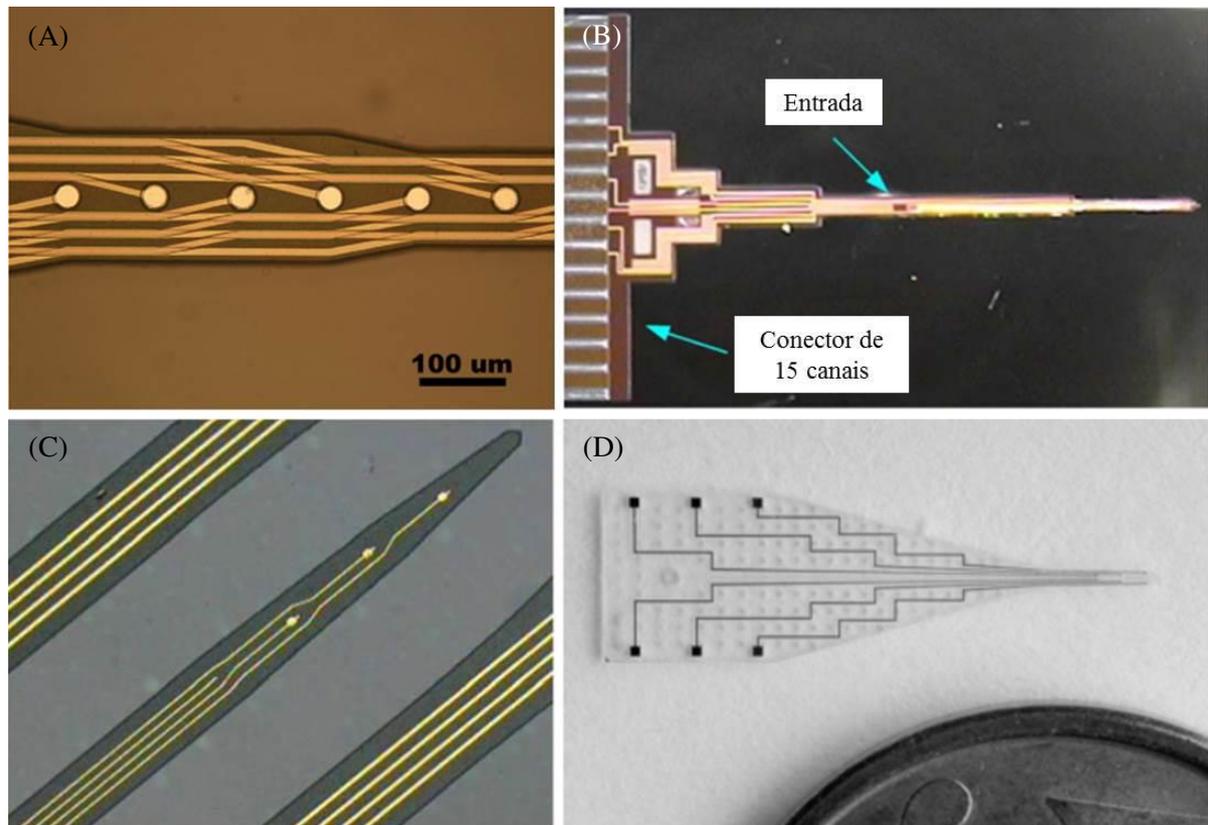


Figura 1.4: Sondas neurais poliméricas. (A) Sonda neural de poliimida. Imagem adaptada de [22]; (B) Sonda neural de BCB. Imagem adaptada de [25]; (C) Sonda neural de parylene. Imagem adaptada de [26]; (D) Sonda neural de SU-8. Imagem adaptada de [27]

1.3.3. Sondas neurais de SU-8

O SU-8 é um polímero fotossensível caracterizado como resiste negativo. Este material é frequentemente utilizado em BioMEMS e MEMS. Devido sua baixa absorção óptica no ultravioleta (UV) próximo, os processos de litografia em SU-8 podem resultar em camadas com espessuras de centenas a milhares de micrômetros. Além disso, possui ótimas propriedades físicas e químicas, sendo uma excelente escolha como material estrutural para várias aplicações [33]. Tendo em vista as características do SU-8, ele se mostrou uma boa opção para fabricação de sondas neurais, ao contrário dos outros materiais poliméricos, o SU-

8 permite o controle de sua espessura e flexibilidade [21, 28], além de ser biocompatível [34]. A Tabela 1.1 compara os diferentes polímeros utilizados para fabricação de sondas neurais [21]. Já a Figura 1.5 apresenta algumas sondas neurais de SU-8 encontradas na literatura.

Tabela 1.1: Comparação dos diferentes polímeros utilizados como estruturas de sondas neurais. Tabela adaptada de [21].

	Parylene	BCB	Poliimida	SU-8
Constante dielétrica	2,6 – 3,1	2,65	3,5	3-10
Absorção de água (%)	< 0,1	0,12	4,0	0,3
Módulo de Young (GPa)	2,42-2,76	3,1	2,8	4,5
Espessura (μm)	1-10	1-10	1-10	200

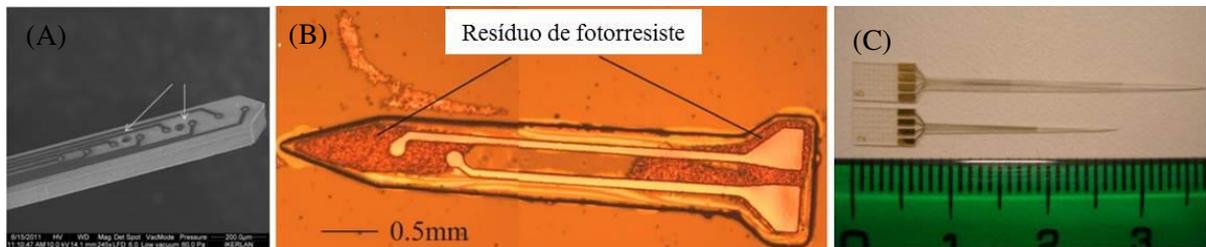


Figura 1.5: Diferentes sondas neurais de SU-8. (A) Imagem adaptada de [21]; (B) Imagem adaptada de [32]; (C) Imagem adaptada de [21].

2. Microfabricação

Nesta seção serão apresentadas e descritas as técnicas e tecnologias usuais de microfabricação, tendo em vista os processos utilizados durante a execução deste trabalho.

2.1. Tecnologia de microfabricação

De modo geral, a tecnologia de microfabricação consiste na execução sequencial de processos e etapas de forma cíclica. As técnicas empregadas, por sua vez, são derivadas dos processos desenvolvidos e utilizados na indústria de semicondutores e circuitos integrados. Desta forma, são empregados os procedimentos de litografia, deposição de filmes finos e corrosão para produção das estruturas desejadas. Além dos procedimentos principais, existem diversas técnicas auxiliares. A grande variedade de processos e materiais disponíveis permite a fabricação de uma gama enorme de dispositivos. O silício, em particular, é o material mais frequentemente utilizado na tecnologia MEMS, entretanto, o uso de materiais alternativos estão se tornando cada vez mais populares nas mais diversas aplicações [2, 35].

Os processos de microfabricação são realizados com auxílio de um substrato, cuja função é servir como base para execução dos protocolos. Desta forma, os dispositivos podem ser fabricados tanto no substrato em si quanto em sua superfície. Estas duas abordagens, denominadas de *bulk micromachining* e *surface micromachining* respectivamente, possuem características e metodologias próprias. Na primeira são utilizadas majoritariamente técnicas de litografia e corrosão para definição das estruturas. Já na segunda, os dispositivos são definidos a partir da deposição e corrosão de sucessivas camadas de filmes finos sob o substrato [3, 36, 37].

2.1.1. *Top-down e Bottom-up*

O desenvolvimento de dispositivos na escala micrométrica é muito diferente da produção de elementos comuns do dia a dia. A incapacidade do ser humano em observar e manipular estruturas microscópicas inspira o desenvolvimento de técnicas e tecnologias para atuar sobre estes elementos. De um ponto de vista reducionista, a maneira mais óbvia para fabricar microdispositivos consiste na redução sistemática da matéria bruta até o formato

desejado. Esta abordagem é comumente definida como *top-down*. Por outro lado, dada a natureza da escala é possível conceber o caminho inverso, ou seja, formar dispositivos funcionais a partir de estruturas menores, como átomos e moléculas. Por este motivo, esta abordagem é denominada como *bottom-up* [36].

2.1.2. Bulk Micromachining

Bulk micromachining é a tecnologia MEMS mais antiga, além de ser o método comercial mais bem sucedido para fabricação de dispositivos [35]. Seu conceito consiste, basicamente, no desenvolvimento de estruturas e dispositivos tridimensionais esculpidos dentro do substrato utilizado. Isso permite a fabricação de diferentes tipos de componentes, tais como membranas e *cantilevers*, comumente utilizados em sensores e atuadores. Para isso são empregadas técnicas de corrosão seca e úmida, tanto isotrópica quanto anisotrópica, para definição das geometrias desejadas. O substrato mais frequentemente utilizado é o silício, no entanto, também são empregados materiais alternativos, tais como quartzo, SiC, GaAs, InP e etc [36]. Além disso, é possível a integração destes processos com a tecnologia de fabricação de circuitos integrados (CMOS) em um mesmo substrato. Isso permite o acoplamento de elementos microeletromecânicos junto a circuitos de processamento de sinais em um mesmo *chip* [35].

Através dos processos de fotolitografia e corrosão é possível o desenvolvimento de estruturas fora do plano do substrato. Após definição do padrão desejado, parte do material funciona como máscara para o procedimento. A parte exposta, por sua vez, é submetida ao processo de corrosão para subtração da área. Diferentes materiais são empregados para proteger o substrato e fazer o papel de máscara. Para substratos de silício, em particular, são comumente utilizados dióxido de silício (SiO_2), nitreto de silício (Si_3N_4) e filmes metálicos (Au) [36, 37, 38]. A corrosão isotrópica corrói o material em todas as direções de maneira uniforme, com mesma taxa. Em outras palavras, este é um processo não-direcional. Desta maneira, perfis cilíndricos podem ser fabricados. Normalmente, são utilizadas soluções ácidas para corrosão úmida, como HNA, HF e HNO_3 , e vapor de XeF_2 para corrosão seca. Por outro lado, a corrosão anisotrópica corrói diferentes direções com taxas distintas de forma direcional, devido as propriedades individuais de cada plano cristalográfico do material. Para a corrosão de silício utilizando-se KOH, por exemplo, sabe-se que as razões das taxas de corrosão entre as direções cristalográficas (100) e (111), e (110) e (111) são aproximadamente 300:1 e 600:1 respectivamente [39]. Desta forma, é possível a obtenção de perfis cônicos e

piramidais. Para corrosão úmida este processo é geralmente mais lento que o anterior, e demanda altas temperaturas ($> 80^{\circ}\text{C}$). São utilizadas as soluções de NaOH, LiOH, CsOH e etc [36, 37], sendo o KOH o mais popular. Em contrapartida, para corrosão seca são utilizadas técnicas como DRIE (do inglês *deep reactive ion etching*) para formação das estruturas. A Figura 2.1 ilustra os perfis característicos de ambos os tipos de corrosões.



Figura 2.1: Processos de corrosão. A magnitude das setas são proporcionais às taxas de corrosão. (A) Corrosão anisotrópica; (B) Corrosão isotrópica.

Ademais, algumas soluções corroem o silício com taxas dependentes da concentração de impurezas presentes no substrato. Em muitos casos é desejado que o processo de corrosão termine quando uma certa espessura é alcançada (*etch stop*). A alta densidade de boro (dopante tipo-p) em silício, por exemplo, reduz a taxa de corrosão do KOH no silício dopado em várias ordens de grandeza, eventualmente parando na região com maior densidade [36, 37]. Desta forma, é possível maior controle das espessuras desejadas.

2.1.3. Surface Micromachining

Surface micromachining é uma metodologia de fabricação aditiva que também faz uso da adaptação da tecnologia CMOS para o desenvolvimento de microdispositivos [37]. Em contraste com *bulk micromachining*, as estruturas ou dispositivos são desenvolvidos mediante a deposição contínua de camadas sob o substrato de trabalho. Esta tecnologia foi inicialmente demonstrada para o desenvolvimento de CI's e futuramente aplicada para fabricar microestruturas na década de 1980, dado o aperfeiçoamento da deposição de filmes finos e o aumento do entendimento de suas propriedades mecânicas. Atualmente, esta metodologia é muito utilizada para a fabricação comercial de microdispositivos (acelerômetros, giroscópios, sensores e etc) [37,40]. Seu desenvolvimento se deu majoritariamente pelo uso de *wafers* de silício como substrato, no entanto, visto que suas propriedades não interferem substancialmente nos processos subsequentes é possível a utilização de materiais alternativos

mais baratos, como o vidro. Vale ressaltar que neste procedimento a formação das estruturas independem da cristalografia do substrato [36]. Junto ao silício, dióxido de silício (SiO_2) e nitreto de silício (Si_3N_4) são comumente utilizados como camada sacrificial. Além disso, geralmente é feito o uso de corrosão úmida para eliminação destas camadas, para isso são empregados diferentes corrosivos (KOH, HF, NaOH e etc) [37].

Os processos de corrosão permitem a definição dos padrões no plano, enquanto as camadas sucessivas estabelecem o caráter tridimensional aos dispositivos. Isso permite o desenvolvimento de estruturas menores em comparação à abordagem de *bulk micromachining* [36]. Por outro lado, a adição de múltiplas camadas diminui a planaridade do substrato, de forma a estabelecer um limite prático para a espessura final da estrutura [35]. Um processo típico desta tecnologia é dada pela deposição de uma camada sacrificial, deposição dos materiais estruturais e subsequente definição dos padrões desejados, e por fim, a remoção da camada sacrificial. A última etapa permite a liberação dos dispositivos do substrato de trabalho ou somente de áreas desejadas, e é realizada de forma seletiva. A Figura 2.2 ilustra um exemplo da metodologia usual de *surface micromachining*.

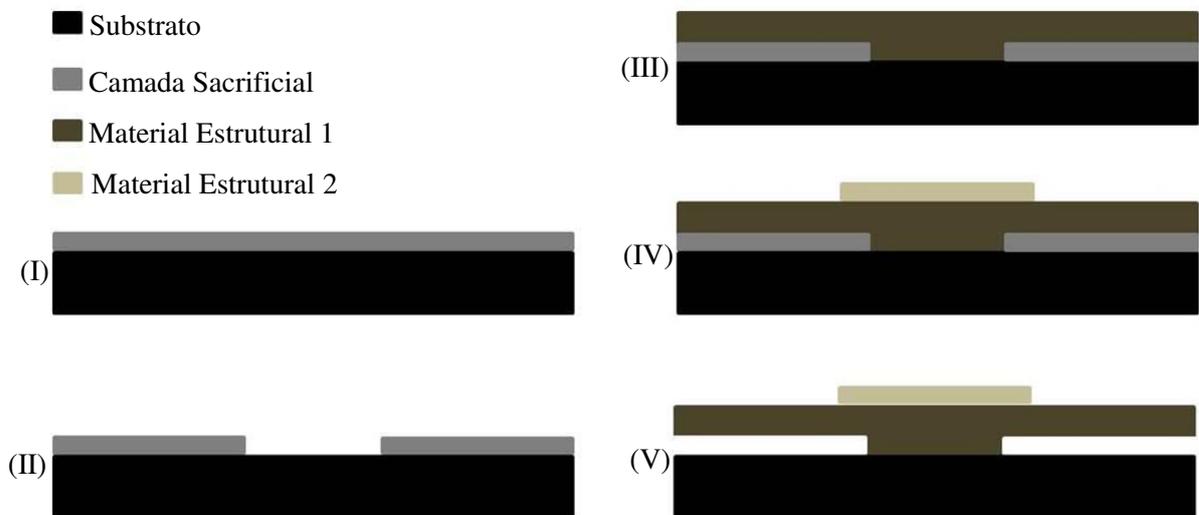


Figura 2.2: Exemplo de um processo usual de *surface micromachining*. (I) Deposição da camada sacrificial; (II) Definição do padrão desejado; (III) Deposição do primeiro material estrutural; (IV) Deposição do segundo material estrutural; (V) Corrosão da camada sacrificial.

É importante notar que os filmes depositados devem satisfazer diferentes requerimentos. É esperado boa aderência, baixo *stress* residual e gradiente de *stress*, resistência química e boas características mecânicas, simultaneamente. Além disso, as propriedades observadas para um material volumétrico podem ser substancialmente diferentes

daquelas encontradas em forma de filmes finos [36]. Por fim, essa abordagem permite o desenvolvimento de uma grande quantidade de microdispositivos complexos em três dimensões com alta precisão, e em um mesmo substrato.

2.1.4. Substratos

Durante o desenvolvimento de um dispositivo a escolha do substrato é uma etapa fundamental, e está intimamente ligada à metodologia de fabricação empregada. Diferentes substratos se comportam de maneiras distintas aos diversos processos de microfabricação. Além disso, possuem papéis definidos para as diferentes abordagens de tecnologia de fabricação (*bulk* ou *surface micromachining*). A seguir serão descritos os dois materiais utilizados como substrato neste trabalho, embora existam outras alternativas, como plásticos, cerâmicas, etc. A Tabela 2.1 compara diferentes materiais utilizados como substratos em termos do custo, facilidade em metalização e na capacidade de realização dos processos de microfabricação. É possível notar que tanto a cerâmica quanto o vidro são materiais difíceis de microfabricar, e que plásticos não são tão passíveis de metalização quanto os outros materiais. O Si possui o maior custo por unidade de área, entretanto, a capacidade de fabricação de uma alta densidade de dispositivos pequenos pode superar esta desvantagem [36].

Tabela 2.1: Performance de diferentes materiais utilizados como substratos. Tabela adaptada de [36].

Substrato	Custo	Metalização	Microfabricação
Cerâmica	Médio	Médio	Baixo
Plástico	Baixo	Baixo	Médio
Silício	Alto	Alto	Muito alto
Vidro	Baixo	Alto	Baixo

2.1.4.1. Silício

O silício (Si) é o material padrão para a indústria de semicondutores e CI's, por este motivo se tornou o substrato mais comum para a tecnologia MEMS [38]. Além disso, existe uma gama enorme de técnicas, tecnologias e equipamentos desenvolvidos para trabalhar com o Si. Muitas destas técnicas foram adaptadas para o desenvolvimento de microdispositivos, o que possibilita a integração de diferentes tipos de elementos microeletromecânicos com componentes fabricados com tecnologia CMOS.

São utilizados *wafers* de monocristais com diâmetros de 75 à 200 mm e espessura entre 0,25 - 1,0 mm [3]. Podem ser empregados monocristais com diferentes planos cristalográficos. Além da alta abundância na crosta terrestre, o Si possui ótimas características elétricas e mecânicas para dispositivos MEMS. Diversos tipos de sensores e atuadores são fabricados com este material. Por outro lado, para uso em alguns sistemas médicos e biológicos (BioMEMS), o Si pode não possuir os atributos pertinentes. Suas propriedades ópticas e rigidez mecânica, por exemplo, podem se tornar desvantajosos. Para sistemas implantáveis, em particular, é esperada alta biocompatibilidade do material, de forma a garantir a integração dos dispositivos com o tecido biológico. Ademais, o alto custo envolvido na fabricação de microdispositivos em Si inviabiliza seu uso para algumas aplicações específicas, como situações em que são necessários o descarte do material utilizado, ou quando o substrato de trabalho não influencia na metodologia aplicada (*surface micromachining*).

2.1.4.2. Vidro

Embora seja compatível com uma quantidade inferior de processos de microfabricação em relação ao Si, o vidro possui ótimas propriedades dielétricas e ópticas. Algumas técnicas de corrosão úmida isotrópica, e corrosão seca anisotrópica, foram desenvolvidas para microfabricação neste tipo de substrato. Podem ser utilizados *wafers* com diferentes composições e diâmetros, com espessuras entre 50 μm à 10 mm [41]. Dado sua transparência para comprimentos de onda na luz visível, o vidro é adequado para dispositivos com princípios de detecção óptica. Além disso, este material é quimicamente inerte e apropriado para aplicações a altas temperaturas [38]. Por ser um material barato o vidro é uma ótima alternativa para diversas aplicações. Em particular, *chips* microfluídicos são frequentemente fabricados em vidro.

2.2. Processos de microfabricação

Os processos usuais de microfabricação são: fotolitografia, corrosão e deposição de filmes finos. Entretanto, para cada um destes processos existem diversas técnicas e tecnologias desenvolvidas. Desta forma, a escolha da metodologia empregada é definida tanto pela natureza e funcionalidade do dispositivo final quanto pelos materiais disponíveis. A seguir serão descritos os principais métodos de microfabricação.

2.2.1. Litografia

A litografia é um dos processos mais importantes para a fabricação de microestruturas. Por muitos anos este processo tem auxiliado o desenvolvimento da indústria microeletrônica. De forma geral, a litografia é utilizada para transferir cópias de um padrão sob a superfície de um substrato. As técnicas de litografia podem ser divididas em dois tipos: com e sem máscara [42]. O primeiro faz uso de máscaras litográficas para transferência das geometrias desejadas. Dentre as técnicas que fazem uso de máscaras estão: fotolitografia e dos tipo *soft* e *nanoimprint* [42]. Esta abordagem permite a produção de várias estruturas simultaneamente com o uso de uma mesma máscara. Já as técnicas de litografia sem máscara interagem diretamente com o fotorresiste para transferência do padrão. A geometria desejada é reproduzida de forma serial no substrato, permitindo a obtenção de pequenas estruturas com alta resolução. No entanto, é um processo lento visto que trabalha com um ou mais *pixel* de cada vez. Dentre as técnicas que não fazem uso de máscara estão: feixe de íons (*focused ion beam*), feixe de elétrons (*electron beam*) e litografia a laser.

2.2.1.1. Fotolitografia

A fotolitografia é a técnica de litografia mais utilizada tanto na indústria quanto na produção de dispositivos MEMS. O processo consiste na exposição seletiva da amostra com luz ultravioleta (UV). Para isso são utilizados uma máscara litográfica e um polímero fotosensível, denominado fotorresiste. A máscara é gerada a partir de um *layout* produzido computacionalmente contendo o padrão desejado. Na fotolitografia o fotorresiste é exposto de forma a definir a imagem da máscara. A área exposta possui propriedades distintas da área não exposta, tornando-se mais (ou menos) solúvel a uma solução denominada de revelador. Após o processo de revelação somente a área desejada se mantém sob o substrato. A Figura 2.3 ilustra um exemplo do processo de fotolitografia.

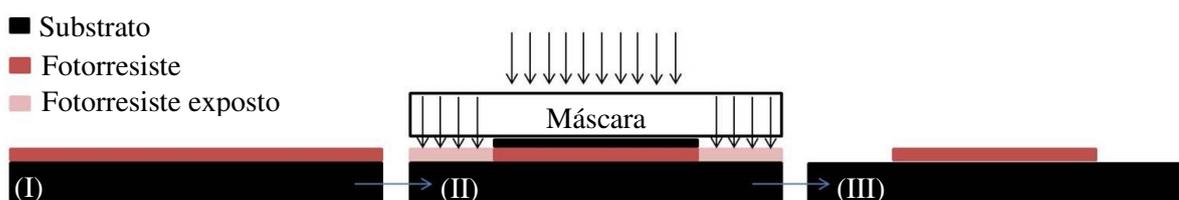


Figura 2.3: Processo de fotolitografia (I) Deposição do fotorresiste; (II) Exposição da área desejada; (III) Revelação da área exposta.

Os comprimentos de onda empregados compreendem as regiões do ultravioleta extremo (EUV, 10 a 14 nm), ultravioleta distante (DUV, 150 a 300 nm) e ultravioleta próximo (350 a 500 nm). Para produção de UV geralmente são utilizadas as linhas g e i (435 e 365 nm) de lâmpadas de mercúrio. Vale ressaltar que quanto menor o comprimento de onda utilizado maior é a resolução do padrão transferido, tornando possível desenvolver estruturas menores.

2.2.1.1.1. Máscaras litográficas

A máscara litográfica é o elemento que contém o modelo da geometria a ser transferida. A projeção da radiação eletromagnética sob a máscara permite a reprodução do padrão sob a superfície desejada. Desta forma, a máscara funciona como um molde, que pode ser utilizado múltiplas vezes sob qualquer material. A máscara consiste de uma superfície transparente de vidro ou quartzto com uma fina camada de metal depositado ($\approx 800 \text{ \AA}$ de cromo). A área transparente permite a passagem de luz UV, enquanto a região metalizada não. Assim, a máscara litográfica é posicionada em contato sob a superfície com fotorresiste e exposta à radiação para transferência 1:1 do padrão. A polaridade da máscara, denominada como campo claro ou campo escuro, define como a imagem é transferida. Sua escolha, entretanto, é dada conforme o tipo de fotorresiste utilizado (positivo ou negativo). A Figura 2.4 ilustra as diferentes polaridades. Vale ressaltar que os padrões das máscaras litográficas são definidos por técnicas de litografia mais precisas que a fotolitografia.

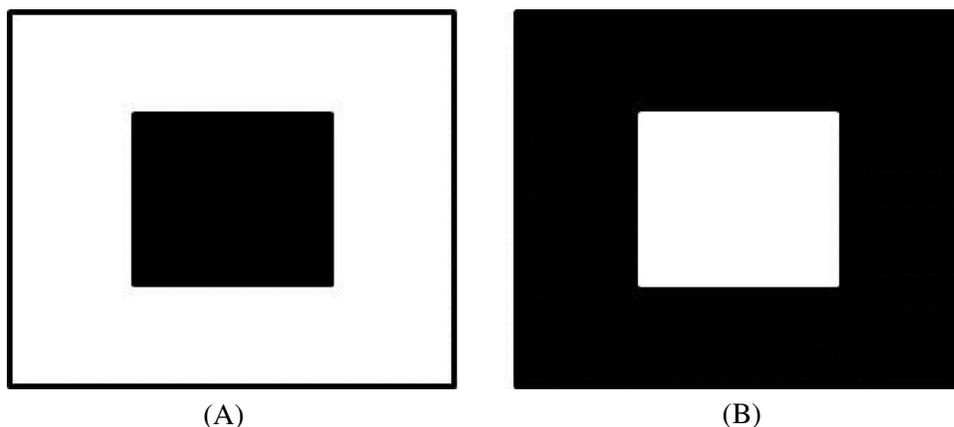


Figura 2.4: Máscaras litográficas com diferentes polaridades. A região clara permite a passagem da radiação UV enquanto a região escura não. **(A)** Máscara campo Claro; **(B)** Máscara campo escuro.

2.2.1.1.2. Fotorresiste

O fotorresiste (ou resiste) é um material fotosensível cujos principais constituintes são um polímero, um sensibilizador e um solvente. O polímero altera sua estrutura quando exposto à radiação, o solvente permite a deposição por *spin-coating* e formação de camadas finas, já o sensibilizador controla as reações fotoquímicas da fase polimérica [36].

De modo geral, os resistes são classificados como positivos ou negativos. Quando um resiste positivo é submetido à radiação as reações fotoquímicas promovem a ruptura das cadeias poliméricas [36]. Assim, a região exposta torna-se mais solúvel à solução de revelação em relação a região não exposta, em torno de 10 vezes. Por outro lado, quando um resiste negativo é submetido à radiação são criadas ligações cruzadas entre as cadeias poliméricas, que resultam em uma estrutura mais rígida, processo denominado de *cross-link*. Desta forma, a região exposta se torna menos solúvel que a região não exposta [36, 43]. A diferença entre ambos os tipos de resistes está ilustrado na Figura 2.5. Já a Tabela 2.2 compara suas características.

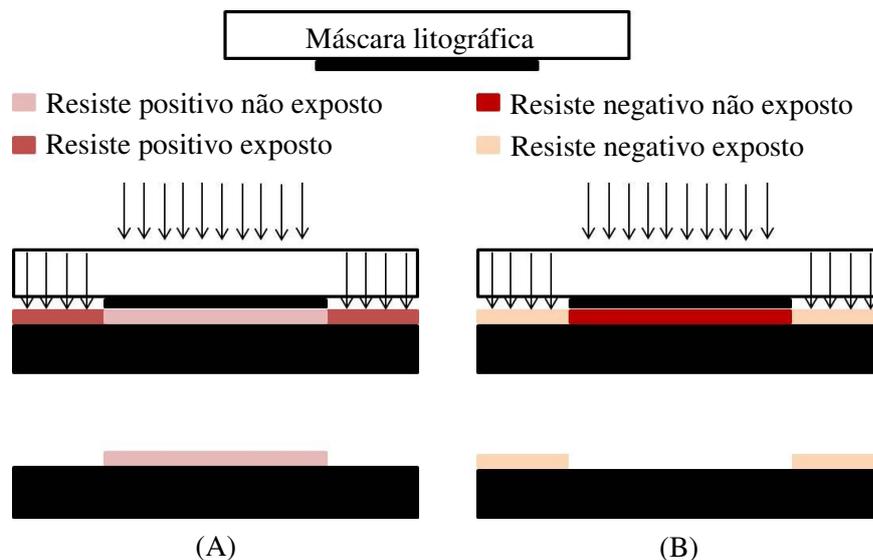


Figura 2.5: Fotolitografia com diferentes tipos de resistes. (A) Resiste positivo; (B) Resiste negativo.

Tabela 2.2: Diferenças entre os resistes positivos e negativos. Tabela adaptada de [36].

Característica	Resiste Positivo	Resiste Negativo
Aderência no Si	Médio	Excelente
Custo	Mais caro	Menos caro
Revelador	Base aquosa	Solvente orgânico
Permite realizar <i>lift-off</i>	Sim	Sim
Menor tamanho	Abaixo de 0,5 μm	$\pm 2 \mu\text{m}$
Resistência à corrosão úmida	Média	Excelente

Além dos tipos descritos, existem resistes que podem ser processados tanto de modo positivo quanto de modo negativo. Tais resistes são denominados como resistes de inversão de imagem. Quando utilizado de maneira positiva os processos são os mesmos para resistes positivos comuns. Em contrapartida, para o modo de inversão de imagem é necessário a adição de um cozimento (*bake*) adicional e uma exposição a mais, porém sem o uso da máscara [43]. Depois de exposta, a amostra é submetida a um cozimento de inversão de imagem, com intuito de fazer a região exposta insolúvel ao revelador. Subsequentemente, toda a amostra é exposta, visando sensibilizar a região que não foi exposta anteriormente. Após a revelação, somente o padrão inicialmente exposto é mantido [44], em contraste com o resultado final do processo positivo. A Figura 2.6 ilustra o processo de inversão de imagem. Em comparação com a Figura 2.5 nota-se que é possível obter tanto o resultado de um resiste positivo quanto negativo, fazendo uso de uma mesma máscara litográfica.

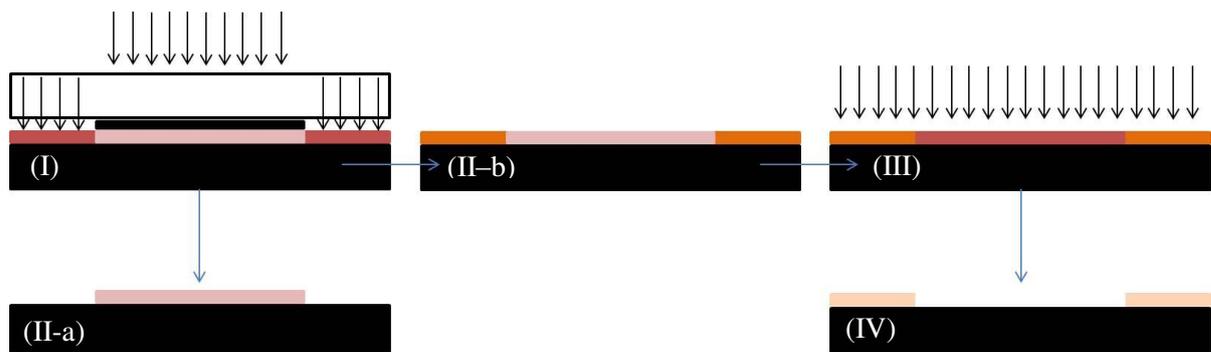


Figura 2.6: Processo de inversão de imagem (I) Exposição do resiste; (II-a) Modo positivo. Revelação da área exposta; (II-b) Cozimento de inversão de imagem; (III) Exposição de toda a amostra; (IV) Revelação.

A absorção óptica dos resistes positivos está entre 460 nm e o UV próximo, que corresponde com o espectro de emissão de lâmpadas de Hg. Já os resistes negativos são sensíveis próximos a 365 nm (linha i). Por este motivo muitos dos resistes positivos possuem uma coloração avermelhada e os resistes negativos são quase transparentes [43]. Como citado anteriormente, o resiste é depositado na amostra por *spin-coating*. Desta forma sua espessura é determinada pela rotação do equipamento, quanto maior for a rotação menos espessa é a camada. Após deposição, o resiste contém uma concentração residual de solvente (20% para filmes finos e 40% para filmes mais espessos) [45]. Visando reduzir a quantidade de solvente, o material é submetido ao processo de pré-cozimento (*pre* ou *soft bake*), que consiste em aquecer a amostra. O aumento da temperatura promove a difusão e evaporação do solvente excedente [45]. Subsequente à litografia, o resiste é novamente aquecido no processo denominado pós-cozimento (*post bake*). Entretanto, vale ressaltar que a necessidade deste

procedimento depende do resiste utilizado. O pós-cozimento tem como função catalizar as fotoreações iniciadas na exposição de certos resistes, além de ser essencial para o mecanismo de ligações cruzadas que ocorre em resistes negativos. Além disso, reduz o *stress* mecânico formado durante os processos de pré-cozimento e exposição, principalmente para camadas mais espessas [46]. Por fim, após a revelação da amostra o processo de *hard bake* pode ser realizado. Caso necessário, o *hard bake* tem como finalidade aumentar a estabilidade térmica, química e física das estruturas reveladas, de forma a auxiliar a execução de etapas posteriores, como corrosão [47]. Vale ressaltar que os processos de cozimentos são muito sensíveis à temperatura e ao tempo de aquecimento. Defeitos no resiste podem ser gerados caso os parâmetros não sejam adequados.

2.2.2. Deposição

A adição de materiais sob um substrato é um dos processos fundamentais para a tecnologia MEMS. Filmes finos podem ser empregados para diferentes funções, como materiais condutores ou isolantes, camadas sacrificiais e máscara, por exemplo. Existe uma grande quantidade de técnicas para deposição de diferentes tipos de materiais, inclusive materiais orgânicos. A escolha do processo está intimamente ligado ao metal desejado e à funcionalidade do dispositivo a ser fabricado, visto que diferentes técnicas de deposição podem produzir resultados com características distintas, como *stress*, aderência, etc [35]. De modo geral, a tecnologia de deposição pode ser dividida entre processos químicos ou físicos. O primeiro produz materiais sólidos sob o substrato por reações químicas. Dentre as técnicas utilizadas para deposição química estão: eletrodeposição e deposição química por vapor (CVD, do inglês *Chemical Vapor Deposition*). Já a deposição física é dada pela transferência do material desejado de uma determinada área até o substrato. Dentre as técnicas utilizadas estão: *spin-coating* e deposição física por vapor (PVD, do inglês *Physical Vapor Deposition*). A seguir serão descritos os principais processos de deposição utilizados neste trabalho.

2.2.2.1. *Spin-coating*

O *spin-coating* é uma técnica simples que permite a deposição de materiais líquidos sob uma superfície plana. O processo consiste na deposição do material no centro do substrato e na subsequente rotação da amostra à altas velocidades (geralmente acima de 2000 RPM), de forma a espalhar o material uniformemente sob toda a superfície. A espessura do

filme obtido é dependente da viscosidade do material e é inversamente proporcional ao RPM utilizado, ou seja, quanto maior a rotação menor é a camada resultante. Esta técnica é comumente utilizada para deposição de fotorresistes. O equipamento utilizado para realização deste processo é denominado *spinner*. A Figura 2.7 ilustra o procedimento de *spin-coating*.

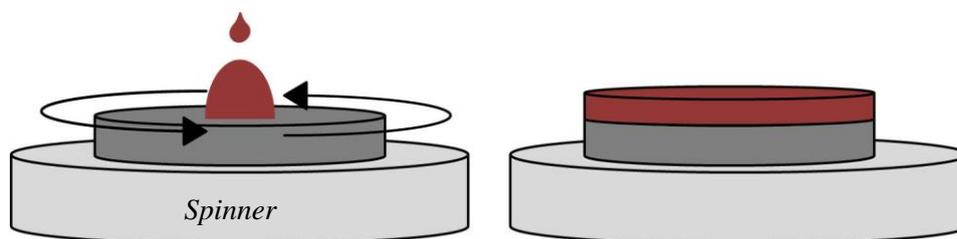


Figura 2.7: Processo de *spin-coating* em um *spinner*.

2.2.2.2. Deposição física por vapor (PVD)

Existem diferentes técnicas de PVD para transferência de um material (sólido, líquido ou gasoso) localizado em uma fonte para o substrato desejado. Entretanto, as principais técnicas utilizadas são: evaporação e *sputtering*. Geralmente estes processos são empregados para deposição de materiais condutores como diferentes metais, apesar da capacidade de depositar outros tipos de materiais.

2.2.2.2.1. Evaporação

A evaporação é uma das mais antigas técnicas de deposição de filmes finos. O processo consiste no aquecimento do material a ser depositado em uma câmara de vácuo contendo o substrato. O material é aquecido até atingir seu ponto de evaporação. Após evaporado o material se expande e deposita filmes finos por toda a câmara, inclusive no substrato desejado. O vácuo é fundamental para garantir que os átomos do material se movam livremente, de forma a condensar em toda a superfície da câmara de maneira uniforme. Sob as condições ideais, o processo de evaporação produz filmes com alta pureza e estrutura conhecida [36]. Existem diferentes tecnologias para o aquecimento do material, podem ser utilizados resistores, feixes de elétrons, fontes de radiofrequência (RF) e laser. Os diferentes métodos possuem desempenhos e características distintas, entretanto, a escolha do método ideal pode depender do material a ser evaporado.

2.2.2.2.2. Sputtering

O processo de *sputtering* consiste na incidência de partículas de altas energias em direção ao material a ser depositado. As partículas são aceleradas por uma diferença de potencial ou por RF, e possuem energia o suficiente para remover alguns átomos do alvo, que por sua vez se depositam sobre o substrato. São utilizados gases inertes (argônio ou xenônio) para geração do plasma, com intuito de evitar reações químicas com o substrato. Dentre as opções de deposição o *sputtering* é preferível em diversas aplicações [36]. A velocidade das partículas retiradas por este método são superiores às do material removido pelo método de evaporação, o que garante melhor aderência dos átomos ao substrato [1]. Além disso, o *sputtering* pode ser utilizado com uma grande quantidade de materiais, possui maior uniformidade e permite o controle da espessura dos filmes depositados pelos parâmetros de operação do equipamento. Entretanto, é um método caro, a taxa de deposição do *sputtering* é muito baixa comparada com a evaporação, e há a possibilidade de incorporar impurezas. A Tabela 2.3 apresenta uma comparação entre os métodos de evaporação e *sputtering*.

Tabela 2.3: Comparação entre os métodos de evaporação e *sputtering*. Tabela adaptada de [36].

	Evaporação	<i>Sputtering</i>
Taxa de deposição	Milhares de camadas atômicas por segundo	Uma camada atômica por segundo
Escolha do material	Limitada	Quase ilimitada
Pureza	Alta (processo realizado em vácuo)	Possibilidade de incorporar impurezas
Uniformidade	Difícil	Fácil obter sob áreas grandes
Controle de espessura	Controle difícil	Possibilidade de controle
Aderência	Baixa	Excelente

2.2.2.3. Eletrodeposição

Em contraste com as técnicas anteriores, a eletrodeposição é um método de deposição químico. Uma grande quantidade de metais podem ser depositados com esta técnica, com taxas de deposição superiores aos alcançados por métodos com vapor. Além disso, possibilita a deposição de camadas de algumas centenas de nanômetros até alguns milímetros de espessura [48]. Para realização da eletrodeposição não são necessários equipamentos caros. É preciso de um cátodo, um ânodo ou contra-eletródo e uma solução

eletrolítica contendo o íon metálico desejado. O substrato é inserido na solução e mantido a um potencial negativo em relação ao contra-eletródo, funcionando como cátodo. O potencial estabelecido gera uma corrente entre os eletrodos através do eletrólito. A corrente induz o processo de redução dos íons da solução, produzindo pequenas partículas de metal. Este processo ocorre sob a superfície do substrato, permitindo que as partículas se depositem sob a amostra. A eletrodeposição é um processo simples, mas requer o controle da concentração da solução, pH, agitação, e temperatura do processo. Vale ressaltar que em geral a espessura depositada não é completamente uniforme, visto que fatores geométricos e não uniformidade da distribuição de corrente afetam a taxa de deposição [49].

2.2.3. Corrosão

Assim como os processos de litografia e deposição de filmes finos, a corrosão é uma das principais técnicas da tecnologia MEMS. Durante os processos de microfabricação é comum ter a necessidade de subtrair um material ou corroer de forma seletiva alguma região, de forma a definir as estruturas desejadas. O desempenho do processo é definido a partir da seletividade da corrosão, uniformidade, reprodutibilidade e perfil da estrutura resultante. Através da corrosão espera-se a transferência do padrão proposto sob o substrato com alta fidelidade. Existe uma grande variedade de técnicas desenvolvidas para corrosão, que podem ser divididas entre úmida e seca. A corrosão úmida faz uso de químicos líquidos para interagir com a superfície da amostra e remover o material desejado. Já a corrosão seca utiliza elementos em forma gasosa ou vapor para acelerar seus íons contra a amostra, a fim de extrair seu material. Ambos podem corroer de forma isotrópica e anisotrópica (vide 2.1.2 *Bulk Micromachining*) [36, 37, 38]. A escolha do processo a ser empregado depende tanto da metodologia de fabricação utilizada quanto dos materiais envolvidos. Entretanto, vários tipos de corrosão podem ser utilizados para a fabricação de um mesmo dispositivo, independente da tecnologia de fabricação utilizada. A Tabela 2.4 apresenta a comparação entre as corrosões úmida e seca.

Tabela 2.4: Comparação entre os métodos de corrosão úmida e seca. Tabela adaptada de [36].

	Corrosão úmida	Corrosão seca
Direcionalidade	Direcional apenas para monocristais	Altamente direcional para a maioria dos materiais
Impacto ambiental	Alto	Baixo
Processo em escala	Fácil	Difícil
Custo	Baixo	Alto
Número de parâmetros	Poucos	Muitos
Taxa de corrosão típica	Rápido (1 $\mu\text{m}/\text{min}$)	Lento (0,1 $\mu\text{m}/\text{min}$)
Controle da taxa de corrosão	Difícil	Fácil
Seletividade	Pode ser alta	Baixa
Materiais que podem ser corroídos	Todos	Apenas um grupo de materiais

2.2.4. *Lift-off*

A técnica conhecida como *lift-off* permite a padronização de materiais depositados de uma maneira simples. A formação de estruturas pode ser realizado pela deposição do material desejado, seguida da transferência do padrão no resiste (fotolitografia) e subsequente corrosão da área exposta. Alternativamente, o *lift-off* transfere o padrão no resiste e depois deposita o material. Após a eliminação do resiste, somente a região desejada se mantém sob o substrato. A Figura 2.8 ilustra a comparação entre ambos os processos. Nota-se que o ambos obtém o mesmo resultado, entretanto o *lift-off* é um procedimento mais rápido e não faz uso de soluções para corroer o material. Vale ressaltar que diferentes resistes podem ser utilizados para este processo. Tanto resistes positivos e negativos quanto de inversão de imagem são utilizados.

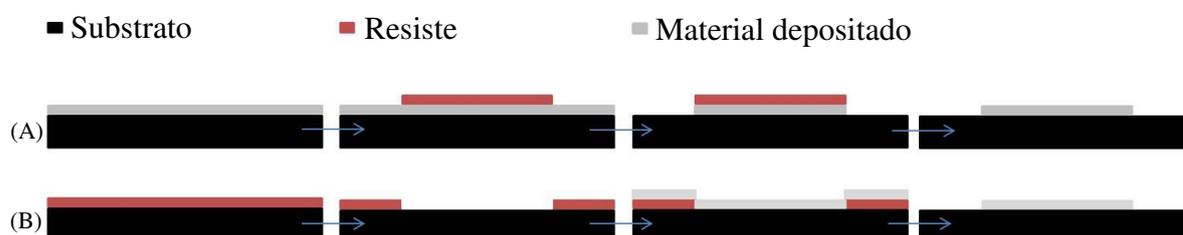


Figura 2.8: Padronização do material depositado. (A) Método usual. Deposição do material desejado sob o substrato; transferência do padrão; corrosão e eliminação do resiste; (B) *Lift-off*. Padronização do resiste; Metalização; Eliminação do resiste.

3. O sistema nervoso e o potencial de ação

Nesta seção são descritos brevemente os principais constituintes do tecido nervoso e a origem da atividade neuronal. Embora o caráter majoritariamente tecnológico deste trabalho, focado na produção de sondas neurais de SU-8, é de fundamental importância o entendimento básico da natureza e dos elementos envolvidos na atividade elétrica do cérebro. O conhecimento da estrutura e atividade no sistema nervoso permite melhor compreensão das dificuldades e oportunidades envolvidas no desenvolvimento de novas tecnologias de próteses e implantes neurais, além de propiciar a comunicação entre engenheiros e neurocientistas.

3.1. O sistema nervoso

O sistema nervoso é dividido em duas partes: o Sistema Nervoso Central (SNC) e o Sistema Nervoso Periférico (SNP). No primeiro é onde se encontram a maioria das células nervosas, seus prolongamentos e os contatos entre sí. Já no segundo, há relativamente poucas células, e uma grande quantidade de fibras nervosas, agrupadas em nervos [50]. Ambos são compostos, principalmente, por neurônios e gliócitos, também chamado de células da glia. Os neurônios, em particular, são considerados a unidade funcional de informação do sistema nervoso. Embora tanto neurônios quanto gliócitos sejam capazes de gerar sinais, somente o primeiro é capaz de produzir sinais bioelétricos integrados às vias de sinalização bioquímica de seu citoplasma [50]. Grandes conjuntos neuronais formam, com auxílio e suporte dos gliócitos, complexas redes, ou circuitos, capazes de codificar e processar informação. No sistema nervoso, diferentes conjuntos neuronais possuem funções específicas e, embora estejam localizados em regiões distintas, são capazes de trabalhar em paralelo de forma coordenada. Desta forma, diferentes circuitos podem ser associados às funções visuais, motoras, auditivas, etc [50].

3.1.1. Sistema Nervoso Central (SNC)

De modo geral, o SNC engloba todas as estruturas neurais encontradas dentro do crânio e da coluna vertebral. Anatomicamente, é dividido em encéfalo e medula espinhal. O encéfalo é constituído pelos elementos contidos no interior da caixa craniana (cérebro, cerebelo e tronco encefálico). Já a medula, constitui-se pela parte que continua a partir do encéfalo no interior do canal da coluna vertebral. A medula apresenta funções motoras e sensitivas, relacionadas ao controle imediato do funcionamento do corpo [50]. Já o encéfalo é responsável pelas funções mais complexas, como a cognição. O cérebro, em particular, é composto por dois hemisférios, com uma superfície enrugada (giros e sulcos). Esta superfície, denominada de córtex cerebral, é a região responsável pelas funções neurais e psíquicas mais complexas [50] do indivíduo. O SNC é envolto pelo líquido e as meninges, cujas funções abrangem a proteção mecânica, nutrição e manutenção do meio bioquímico ótimo para o funcionamento neural [50].

3.1.2. Sistema Nervoso Periférico (SNP)

Os nervos são os principais componentes do SNP, e estão distribuídos ao longo de todo o corpo. Uma de suas extremidades liga-se ao SNC, enquanto a outra se vincula à um determinado órgão. Próximos aos locais de terminação nos órgãos, as fibras nervosas individuais se ramificam profusamente, até que cada ramo termina em estruturas microscópicas especializadas. Os nervos podem transmitir informações sensitivas ou motoras, somáticas ou viscerais [50]. Os nervos são responsáveis, por exemplo, pela recepção, transdução e transmissão dos sinais que serão interpretados como sensações de tato e dor pelo SNC, e nos sinais de comando dos músculos de uma determinada região, oriundas do SNC. Portanto, os nervos podem funcionar como vias de mão dupla para transmissão de informação. Além dos nervos, no SNP existem agrupamentos de células nervosas denominados de gânglios, localizados próximos ao SNC ou situados nas proximidades ou dentro das paredes das vísceras [50]. De modo geral, os gânglios funcionam como regiões de processamento local de informação.

3.1.3. Neurônio

Existem diferentes tipos de neurônios, localizados em regiões distintas do sistema nervoso. Entretanto, de modo geral, podem ser divididos morfolologicamente em: corpo celular (soma), dendritos e axônio [50]. O corpo celular contém o citoplasma e as principais organelas celulares, seu diâmetro pode variar de alguns até cerca de cem micrômetros para diferentes tipos de neurônios [50]. Os dendritos são ramificações oriundas do corpo celular responsáveis por receber os sinais de outros neurônios. Já o axônio é caracterizado por um prolongamento mais longo, capaz de conectar regiões mais distantes, com a função de conduzir e emitir os sinais para outros neurônios [50]. A Figura 3.1 ilustra diferentes formas de neurônios.

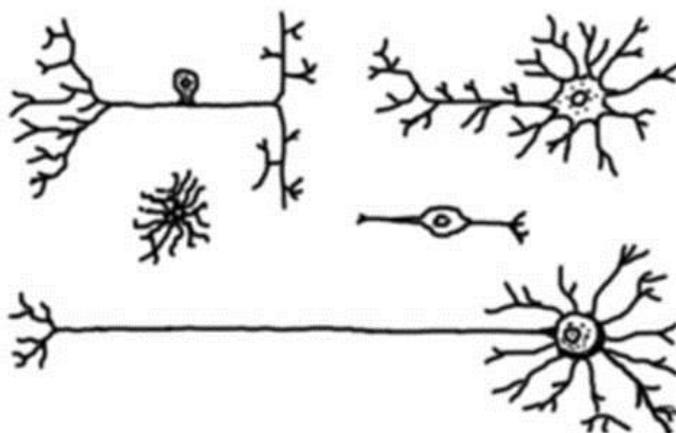


Figura 3.1: Diferentes formas de neurônios. Imagem adaptada de [51]

Os neurônios são células adaptadas para receber, transmitir e processar informação codificada em impulsos elétricos. Isso ocorre pois a membrana celular do neurônio é excitável, devido a presença de proteínas de membrana que funcionam como canais moleculares que permitem a passagem de certos íons de forma seletiva, continuamente ou em resposta a estímulos mecânicos, químicos ou elétricos [50]. No estado de repouso existe uma diferença de potencial elétrico entre os meios intra e extracelular, gerado pelas diferentes concentrações de espécies iônicas entre ambos ambientes. Desta forma, o interior da célula nervosa é mantido em um potencial negativo em relação ao exterior. Por outro lado, estímulos externos podem induzir a abertura de canais iônicos, permitindo a entrada ou saída dos íons presentes, de acordo com seus potenciais de equilíbrio. Os canais se abrem de forma brusca e fecham logo em seguida, alterando de forma significativa o potencial de membrana. Por fim, em poucos milésimos de segundos o sistema volta ao seu estado de repouso [50].

Este processo é a base do impulso nervoso produzido no corpo celular e transmitido ao longo do axônio até sua porção terminal.

A zona de contato entre diferentes neurônios é denominada de sinapse. No processo envolvido da sinapse a informação de um ou mais neurônios pré-sinápticos é transmitida e modulada entre os terminais de suas fibras nervosas para os dendritos ou corpo celular do neurônio pós-sináptico. Há dois tipos de sinapses: as elétricas e as químicas. O primeiro tipo se dá pela transferência de correntes iônicas entre células acopladas. Já o segundo tipo se dá pela liberação de neurotransmissores e neuromoduladores no espaço existente entre as membranas pré e pós-sináptica (fenda sináptica) e sua detecção pelos receptores do neurônio receptor do sinal.

3.1.4. Gliócitos

No cérebro, os gliócitos são tão numerosos quanto os neurônios e também são constituídos por diferentes tipos. No SNC consideram-se duas grandes classes de gliócitos: macroglia e microglia. A primeira engloba os astrócitos, oligodendrócitos e células NG2. Já a segunda é formada pelos microgliócitos. O SNP contém as chamadas células de *Schwann* e células ganglionar satélites. Vale ressaltar que além das células citadas, existem outras células presentes em regiões mais específicas que não se enquadram na classificação acima descrita [50]. De modo geral, seu corpo celular é usualmente menor em relação ao dos neurônios e possui inúmeros prolongamentos que se enovelam e ramificam-se nas extremidades [50]. O núcleo representa a maior parte dos gliócitos e, em contraste com os neurônios, não possui um axônio.

Os gliócitos exercem funções de infraestrutura e processamento de informação, e trabalham em cooperação com os neurônios. Dentre suas funções, os gliócitos servem de proteção, sustentação mecânica e participam da regulação da concentração iônica, nutrientes e mensageiros químicos nas proximidades dos neurônios. Em particular, os astrócitos têm papel na formação e manutenção da barreira hematoencefálica e promovem a modulação da transmissão sináptica, entre outras funções [50]. Já os oligodendrócitos e células de *Schwann* são responsáveis por formar a bainha de mielina em torno de fibras nervosas, possibilitando o aumento da velocidade da transmissão de sinal dos neurônios. Ademais, os microgliócitos desempenham funções de proteção do SNC, sendo capazes de fagocitose e apresentação de antígenos, como os monócitos e os macrófagos presentes no sangue [50].

3.2. Potencial de ação

Como citado anteriormente, o neurônio é responsável pela transmissão da informação no cérebro. Os estímulos são conduzidos dos dendritos até o axônio de um mesmo neurônio, que por sua vez transmite para os dendritos de um neurônio próximo. A membrana celular é de fundamental importância para o processo de transmissão de sinal, devido a presença de canais iônicos seletivos. Alguns canais permitem a passagem contínua de íons, permitindo a manutenção constante do potencial de repouso (entre -70 mV e -60 mV), enquanto outros canais abrem-se em resposta a estímulos específicos, como alterações do potencial de membrana, forças mecânicas, alterações térmicas ou pela presença de substâncias específicas (neurotransmissores, neuromoduladores e hormônios) [50]. Existem canais para cátions, como sódio (Na^+), potássio (K^+) e cálcio (Ca^{++}), e canais para ânions como o cloreto (Cl^-).

A natureza do fluxo de íons e do potencial transmembrana é eletroquímica, sabe-se que as concentrações iônicas são diferentes nos meios intra e extracelular, estabelecendo um fluxo devido ao gradiente de concentração existente. A concentração de sódio e cloreto são superiores no meio extracelular, já o meio intracelular possui maior concentração de potássio e ânions orgânicos [50]. A Figura 3.2 ilustra as diferentes concentrações em ambos os meios. Uma vez aberto um determinado canal, seu respectivo íon movimenta-se da região de maior para menor concentração, até que o gradiente elétrico estabelecido seja o suficiente para se opor ao fluxo iônico. Em outras palavras, a movimentação dos íons é controlada pelo gradiente eletroquímico definido, até atingir o potencial de equilíbrio, conhecido como potencial de Nernst. Quando os canais de sódio se abrem, por exemplo, é observado um fluxo iônico de fora para dentro da célula. A diferença no número de carga líquida estabelece um gradiente elétrico contrário à movimentação dos íons, diminuindo o fluxo transmitido até atingir o potencial de equilíbrio [50].

O potencial de equilíbrio, calculados pela equação de Nernst, para os íons potássio, sódio e cloreto são -75 mV, +55 mV e -60 mV, respectivamente. Nota-se que o potencial de repouso é a combinação dos potenciais de equilíbrio dos diferentes íons envolvidos. A manutenção deste potencial é dada pelas bombas de Na^+/K^+ , que transportam sódio e potássio contra o gradiente de concentração através do consumo de energia, de forma a manter a diferença de concentração existente entre os meios intra e extracelular [50].

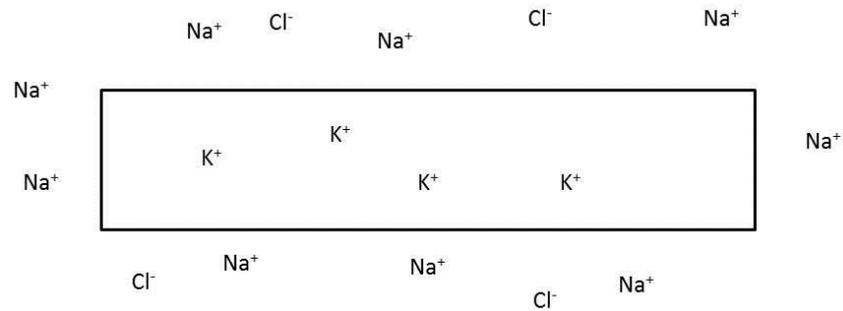


Figura 3.2: Diferentes concentrações iônicas nos meios extra e intracelular.

O potencial de ação em si é a variação local do potencial de membrana, dada pela dinâmica dos íons que atravessam a membrana celular. Esta perturbação é transportada através do neurônio e constitui a base da comunicação neural. A aplicação de um determinado estímulo (elétrico, por exemplo) à membrana em repouso, induz a variação repentina no potencial entre os meios intra e extracelular. Seu valor aproxima-se de 40 mV a 50 mV (despolarização) e depois oscila em torno do valor de repouso (hiperpolarização) até retornar ao seu valor inicial (repolarização). Este processo pode ocorrer em intervalos de tempo menores que 1 milissegundo [50]. A Figura 3.3 ilustra o formato típico de um potencial de ação.

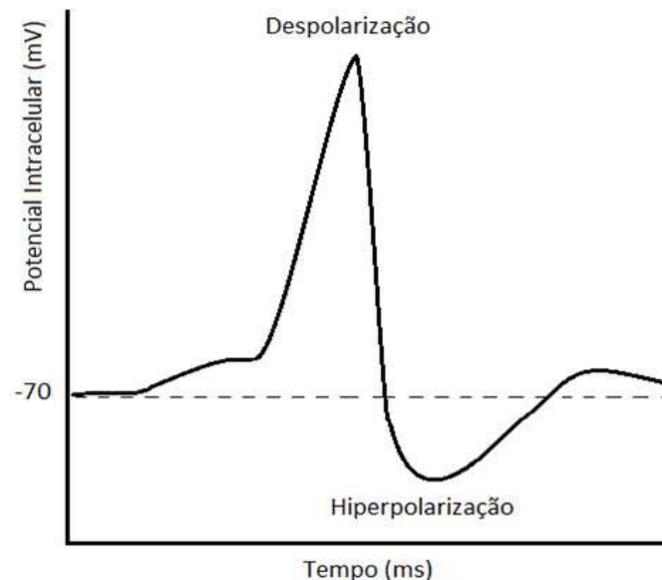


Figura 3.3: Ilustração de um formato típico de um potencial de ação.

O potencial de ação é provocado a partir de uma perturbação suficientemente alta, em torno de 10 mV [50]. A dinâmica do potencial é influenciada pela permeabilidade da

membrana em relação aos diferentes íons envolvidos e pela cinética dos diferentes canais. Sabe-se que a despolarização é causada pela abertura repentina dos canais de sódio dependentes de voltagem, que possibilitam o fluxo de Na^+ para dentro do axônio. Em seguida estes canais se fecham, cessando a corrente de sódio após alguns milissegundos. A hiperpolarização e repolarização ocorre de maneira mais rápida que a diminuição do fluxo de Na^+ . Isso se dá pelos canais de K^+ , que se abrem pouco tempo depois dos canais de sódio. Por estes canais há um fluxo de K^+ para fora da célula, restaurando a polaridade da membrana para o estado de repouso. Durante este intervalo a membrana se torna inexcitável, denominado como período refratário [50].

Este fenômeno é propagado por todo o axônio em direção aos terminais, pois a perturbação local do potencial causado pelos fluxos iônicos induz a abertura dos canais dependentes de voltagem das regiões vizinhas, de forma direcional. Nos terminais, a informação do potencial de ação é convertida em informação química, são liberados certos neurotransmissores na fenda sináptica que, após serem reconhecidas pelo neurônio pós-sináptico, podem induzir ou inibir a geração do potencial de ação neste neurônio [50]. Desta forma, a informação é transmitida para os diversos neurônios da rede.

É interessante notar que os neurônios funcionam como sensores e atuadores biológicos (elétricos, químicos e mecânicos) na escala micrométrica [51]. O sinal elétrico propagado pode ser detectado com eletrodos inseridos nas proximidades dos neurônios. Dada a escala característica das células, microdispositivos tornaram-se a ferramenta ideal para estabelecimento de uma interface com o tecido neural.

4. Metodologia

Esta seção contém a descrição detalhada dos métodos empregados para o projeto, produção e caracterização de sondas neurais de SU-8, bem como dos materiais e equipamentos necessários para realização de cada etapa do processo. Os parâmetros utilizados durante os diferentes protocolos envolvidos estão apresentados no Apêndice A.

Os dispositivos foram desenvolvidos com o uso de técnicas e tecnologias usuais de projeto e microfabricação em superfície (*surface micromachining*). Para a concepção das geometrias individuais e dos *layouts* das máscaras litográficas foram utilizadas conjuntamente ferramentas computacionais de design (CAD, do inglês *computer-aided design*) e programação. Desta forma, foi possível desenvolver um *script* de design para geração automática de sondas neurais. Já para a fabricação dos dispositivos foram utilizadas técnicas de litografia, deposição e corrosão, seguindo-se uma abordagem *top-down*.

O processo de microfabricação empregado foi definido a partir de uma metodologia reportada na literatura [21, 30], brevemente descrita a seguir: inicialmente foi definido o perfil dos dispositivos, conectores e microeletrodos em SU-8; posteriormente, foi depositado um material condutor para preenchimento e definição dos contatos elétricos, regiões de registro e trilhas de contato; subsequentemente outra camada de SU-8 foi depositada visando o isolamento das sondas; em seguida, os dispositivos foram extraídos do substrato de trabalho. Finalizado, as sondas foram empacotadas e submetidas à técnicas de caracterização eletroquímica, com o intuito de avaliar a performance dos microeletrodos alinhados ao longo das regiões de inserção. Por fim, alguns dispositivos foram utilizados em aplicações práticas, visando a análise do desempenho do sistema.

É importante ressaltar que as etapas envolvidas no desenvolvimento de microsistemas estabelecem uma metodologia de natureza cíclica, que visa à otimização das funcionalidades do dispositivo. Uma vez idealizado e fabricado, o dispositivo é submetido à testes de performance. Esta etapa de caracterização tem como objetivos avaliar o desempenho do dispositivo e identificar possíveis falhas ocorridas durante os processos anteriores. Desta forma, novas especificações, requerimentos e alterações podem ser constatadas a fim de serem implementadas nos próximos designs e/ou etapas de microfabricação. A Figura 4.1 ilustra o ciclo de desenvolvimento de dispositivos.

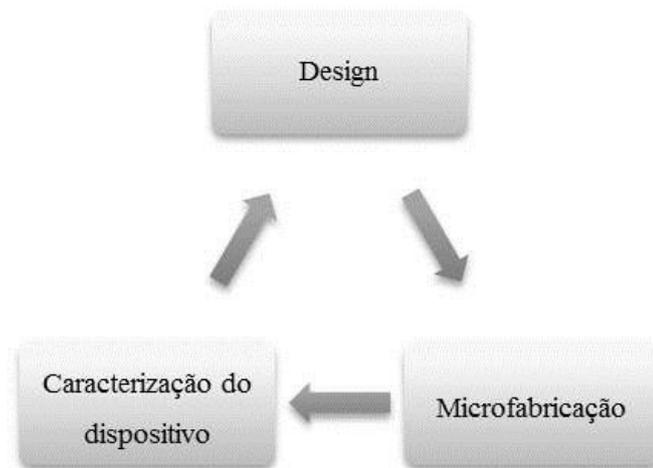


Figura 4.1: Ciclo de desenvolvimento de dispositivos.

4.1. Design

4.1.1. Geometria das sondas neurais

Atualmente, existe uma grande variedade de tipos de sondas neurais, com modificações desde a geometria e tamanho do dispositivo até o número de eletrodos. A pluralidade de designs está intimamente relacionado às particularidades e funcionalidades dos dispositivos, e às diferentes situações de aplicabilidade. O conceito básico de uma sonda neural, entretanto, consiste de duas estruturas principais: região dos conectores (*pads*) e região de inserção. A primeira contém os conectores responsáveis pela interface entre o dispositivo e circuitos externos, já a segunda corresponde à área implantável que comporta os microeletrodos encarregados de estabelecer a interação com o tecido nervoso. A Figura 4.2 ilustra a geometria mais comum que integra ambas estruturas, baseada na sonda neural de *Michigan*. Este modelo simples foi estabelecido como base para o projeto dos dispositivos deste trabalho. Vale ressaltar que o perfil de agulha característico visa o implante preciso e a minimização do dano durante inserção no córtex cerebral.

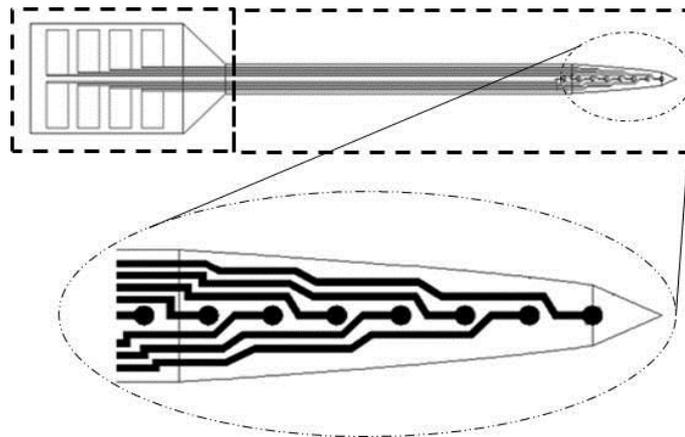


Figura 4.2: Geometria básica de uma sonda neural derivada da sonda de *Michigan*. Regiões de conexão e inserção.

4.1.2. Metodologia de design

A fim de simplificar o processo de projeto e auxiliar possíveis alterações nas geometrias dos dispositivos e *layouts* das máscaras litográficas, foi desenvolvida uma metodologia de geração automática de designs. Para isso, foram utilizadas ferramentas computacionais tais como os *softwares* *IPKISS* (INTEC Photonics Research Group, Gent University/IMEC) [52] e *KLayout* (CAD) [53] em conjunto com a linguagem de programação *Python*. O *IPKISS* é uma ferramenta empregada para o design paramétrico de circuitos integrados e geração de arquivos *.gds* (do inglês *graphic database system*; formato convencional para design de *layouts*), comumente utilizado para projeto de circuitos e componentes fotônicos, que utiliza o *Python* como interface de programação. A organização hierárquica dos componentes no *software* (Figura 4.3) e abordagem orientada a objetos, possibilitam a representação de estruturas (células paramétricas) em termos de um conjunto definido de parâmetros. Todos os elementos do design correspondem a funções específicas, cujas entradas definem tanto suas características físicas (dimensão, largura e etc) quanto sua posição. Isso permite a criação de estruturas individuais que retratam os diferentes componentes de uma sonda neural (perfil do dispositivo, conectores, trilhas e microeletrodos). Cada estrutura é introduzida em camadas específicas (*layers*) que correspondem a diferentes etapas litográficas do processo, já sua divisão por camada é definida pelo protocolo de microfabricação estabelecido. O *KLayout*, por sua vez, é um *software* livre cuja função abrange tanto a visualização de arquivos *.gds* quanto a edição dos *layouts* através de uma interface gráfica própria simples. Seu uso possibilita a formatação dos designs e alteração dos campos (campo claro/escuro) conforme desejado.

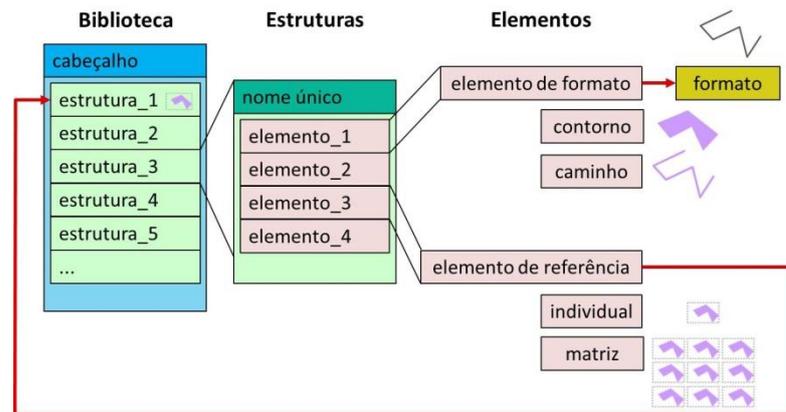


Figura 4.3: Estrutura hierárquica do *IPKISS*. Imagem adaptada de [54].

Dessa maneira, a metodologia de projeto estabelecida consistiu na utilização do *IPKISS* para o desenvolvimento de um algoritmo capaz de gerar tanto as geometrias de dispositivos individuais quanto matrizes de sondas neurais de forma automática, dada a geometria base pré-definida, e no emprego do *KLayout* para visualizar os arquivos produzidos e editar os *layouts* das máscaras litográficas empregadas durante a fabricação. A Figura 4.4 ilustra esta metodologia. O *script* foi escrito de maneira a permitir a customização rápida do design de uma sonda mediante a alteração de um número reduzido de variáveis e parâmetros de proporcionalidade facilitando, assim, o projeto de dispositivos com diferentes configurações e características. A Figura 4.5 apresenta diferentes designs obtidos desta forma.

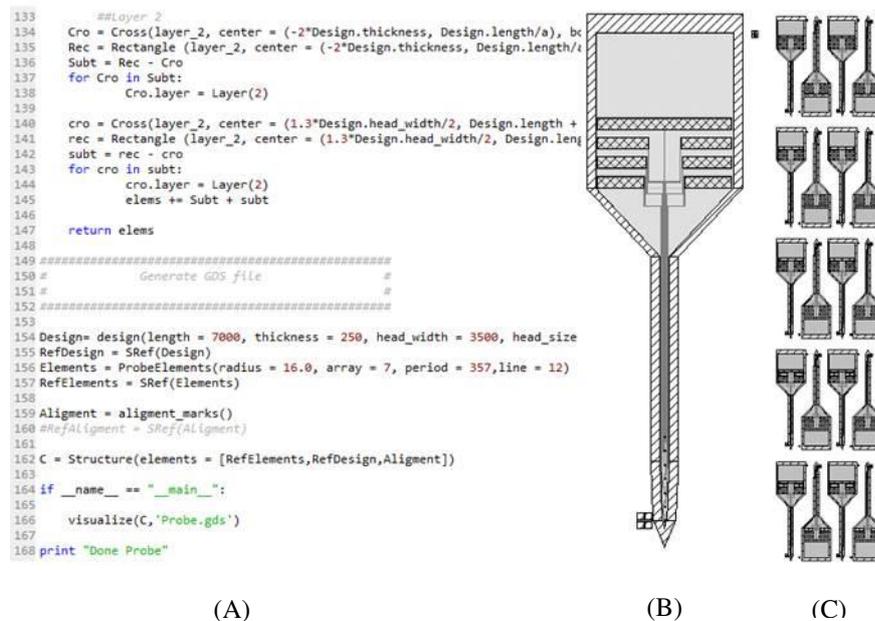


Figura 4.4: (A) *Script* produzido em *Python/IPKISS*; (B) Design resultante; (C) Matriz de sondas neurais. Imagens visualizadas pelo *KLayout*.

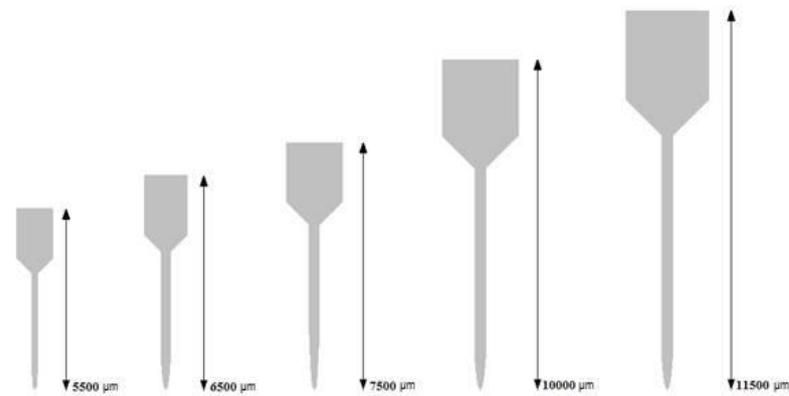


Figura 4.5: Modelos produzidos com diferentes parâmetros.

4.1.3. Máscaras litográficas

Com os designs finalizados os *layouts* das máscaras foram editados e concluídos com auxílio do *KLayout* conforme as exigências do processo de microfabricação, descrito mais adiante. Posteriormente, estes *layouts* foram utilizados para produzir as máscaras litográficas de Cr por litografia a laser (*Heidelberg Instruments, μPG 101 e DWL 66*). Inicialmente, a máscara foi posicionada no equipamento e o arquivo *.gds* do *layout* transferido para seu *software* nativo, que é responsável pelo controle do laser e seus parâmetros, e do processo em si. Após exposição as máscaras foram levadas para revelação do fotorresiste e corrosão do Cr, com intuito de gerar o padrão desejado. As etapas envolvidas na preparação e exposição das máscaras litográficas foram realizadas com auxílio técnico, já as etapas de processamento foram executados em sua totalidade por técnicos do laboratório. A Figura 4.6 ilustra diferentes exemplos de possíveis *layouts* de máscaras litográficas.

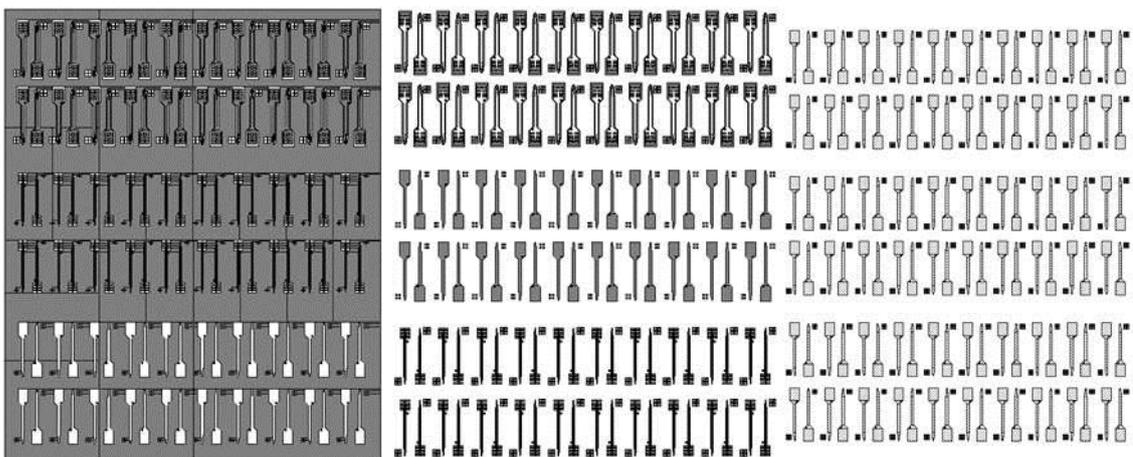


Figura 4.6: Exemplos de *layouts* de máscara litográfica

4.2. Fabricação

Para o procedimento de fabricação das sondas neurais de SU-8 foram utilizadas técnicas usuais de microfabricação em superfície: fotolitografia, corrosão e deposição de filmes finos. Durante sua execução foram aplicadas duas variedades de SU-8 como material estrutural: SU-8 2 e SU-8 50. O primeiro permite a deposição de camadas finas de 1-5 μm [55], com possibilidade de espessuras de até algumas centenas de nanômetros caso diluído em ciclopentanona. Já o segundo é ideal para as deposições mais espessas, de 40-100 μm [56].

Os processos foram realizados em *wafers* de Si de 3", vidros retangulares e vidros circulares de 10 cm de diâmetro, entretanto eventualmente foram utilizados substratos de outras dimensões. Além disso, sob o substrato foi depositado Al como camada sacrificial via *sputtering* ou evaporação. Esta camada tem como objetivo permitir a extração dos dispositivos a partir de sua corrosão. Alternativamente, o protocolo de fabricação foi executado sobre vidro sem deposição de camada sacrificial, com o intuito de eliminar etapas adicionais. Para a metalização e formação dos *pads*, trilhas e microeletrodos foram depositados, por meio de *sputtering*, diferentes materiais condutores disponíveis (Ti/Au, Cr/Au, Ti, TiN), ademais foi realizada a técnica de *lift-off* com auxílio do fotorresiste positivo AZ 5214. O processo de microfabricação empregado foi definido a partir de uma metodologia simples reportada na literatura [21, 30]. Para execução desta metodologia foram necessárias três máscaras litográficas: o primeiro nível demarca o perfil do dispositivo e as regiões dos conectores e microeletrodos; o segundo nível define os *pads*, trilhas e microeletrodos, destacando as áreas a serem metalizadas; já o terceiro e último nível delimita somente o perfil das sondas neurais. A Figura 4.7 ilustra as diferentes etapas envolvidas no protocolo de fabricação dos dispositivos: preliminarmente, foi depositado sob os substratos de Si ou vidro aproximadamente 200 nm de Al como camada sacrificial, via *sputtering* ou evaporação (Figura 4.7; (I) e (II)); subsequentemente, uma camada de SU-8 2 (200 – 1500 nm) foi depositada por *spin-coating* e curada pelo tempo adequado (Figura 4.7; (III)); em seguida, o material foi submetido à fotolitografia do primeiro nível e revelado (Figura 4.7; (IV) e (V)), vale ressaltar que o SU-8 exposto é polimerizado tornando-se insolúvel ao revelador; posteriormente, foi depositado o fotorresiste positivo AZ 5214 (1-1,5 μm), e exposto ao segundo nível e revelado, seguindo-se o método de inversão de imagem (Figura 4.7; (VI), (VII) e (VIII)). Dada a natureza do AZ 5214 e a máscara utilizada (campo claro), este procedimento se faz necessário para remoção e definição das áreas a serem metalizadas (microeletrodos, trilhas e *pads*); em seguida, foi realizado *sputtering* para deposição do

material condutor sobre todo o substrato, e removido o fotorresiste por *lift-off*, de forma a manter o metal somente sobre a área desejada (Figura 4.7; (IX) e (X)); feito isso, uma camada espessa de SU-8 50 ($\approx 50 \mu\text{m}$) foi depositada e curada para subseqüente exposição do terceiro nível (Figura 4.7; (XI) e (XII)); revelado o SU-8 50 não exposto (Figura 4.7; (XIII)), a obtenção do dispositivo finalizado se deu mediante corrosão da camada sacrificial (Figura 4.7; (XIV) e (XV)). A corrosão do Al foi realizado com uma solução diluída de KOH (Hidróxido de Potássio) com auxílio de um técnico de laboratório. O detalhamento dos protocolos de deposição e litografia realizados estão apresentados no Apêndice A.

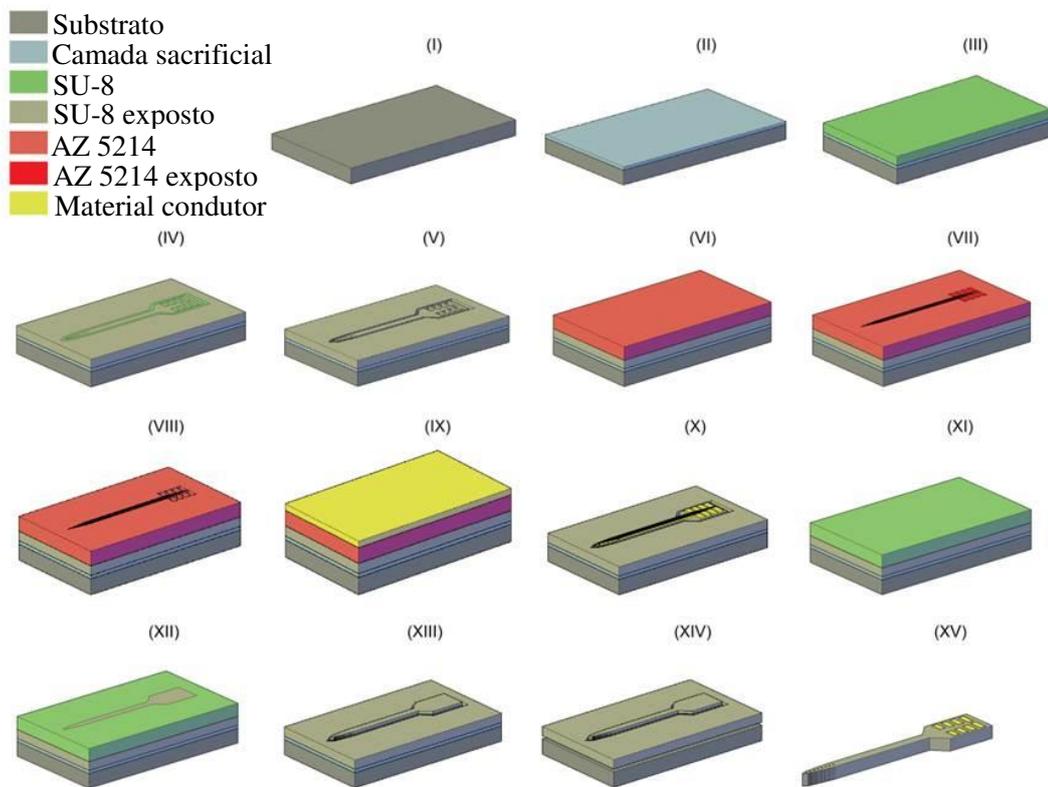


Figura 4.7: Protocolo de fabricação de sondas neurais de SU-8; (I) Substrato de trabalho (Si/vidro); (II) Deposição de camada sacrificial (Al, $\approx 200 \text{ nm}$); (III) Deposição de SU-8 2 ($\approx 200 - 1500 \text{ nm}$); (IV) Fotolitografia com o primeiro nível do dispositivo para definição da geometria da sonda e seus elementos; (V) Revelação do SU-8 não exposto; (VI) Deposição do fotorresiste AZ 5214; (VII) Processo de inversão de imagem com segundo nível para definição dos conectores, trilhas e microeletrodos; (VIII) Revelação do fotorresiste; (IX) Deposição do material condutor; (X) Processo de *lift-off*; (XI) Deposição de SU-8 50; (XII) Fotolitografia com o terceiro nível para definição do perfil do dispositivo; (XIII) Revelação do SU-8 não exposto; (XIV) Corrosão da camada sacrificial para permitir a remoção do dispositivo; (XV) Sonda neural finalizada.

Como citado anteriormente, os processos descritos acima também foram realizados em substratos de vidro na ausência de uma camada sacrificial, visando à

eliminação das etapas (II) e (XIV) da Figura 4.7, e simplificação do processo de fabricação. Para isso, foi necessário o uso de um método alternativo para extração dos dispositivos, fazendo-se uso de pasta fosqueante e água corrente. Durante a etapa (XIII) da Figura 4.7, a pasta fosqueante foi aplicada sobre o substrato a fim de corroer o vidro. Feito isso, o substrato foi posto em água corrente com intuito de remover mecanicamente os dispositivos. Este processo foi realizado de forma periódica até que todos os dispositivos fossem removidos do substrato.

4.3. Empacotamento

Dado os designs dos dispositivos, foram desenvolvidas diferentes versões e modelos de placas de circuito impresso (PCB, do inglês *printed circuit board*), visando facilitar o manuseamento dos dispositivos e otimizar o estabelecimento da interface entre as sondas neurais e circuitos externos, de forma a permitir tanto o processo de caracterização eletroquímica quanto o uso prático em experimentos.

Os *layouts* das placas foram projetados computacionalmente (*software Proteus*), e os protótipos fabricados em uma fresadora CNC (Figura 4.8). Para a fabricação da versão final, entretanto, foram solicitados os serviços de uma empresa especializada (*Griffus PCB Ind Com Ltda*). É importante ressaltar que a produção dos designs e arquivos *.gerber* foram realizadas pelo técnico em eletrônica que auxiliou a equipe, a partir das especificações levantadas durante a execução deste projeto.

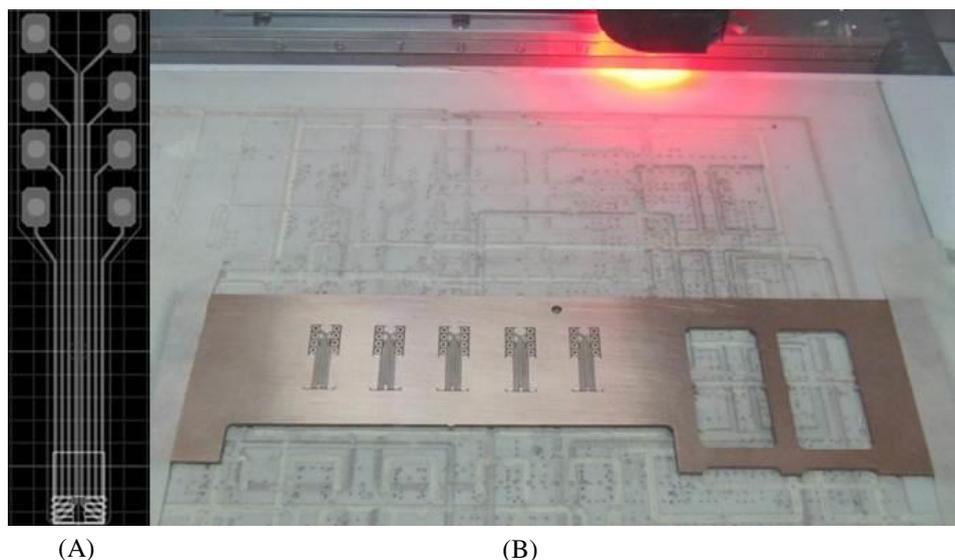


Figura 4.8: Projeto e fabricação dos protótipos dos PCB's. **(A)** Projeto computacional. Imagem cedida por Carlos Bortoloto; **(B)** Fresagem das placas.

O procedimento de empacotamento consistiu em: **(I)** acoplar a sonda neural sob o PCB com o uso de uma resina epoxi (*Loctite, Henkel Corp.*). Após curada, a resina mantém o dispositivo fixo; **(II)** depositar sob os conectores da sonda uma pasta de prata condutiva, de maneira a permitir o processo subsequente; **(III)** microsoldar a sonda com a placa de circuito impresso (*wire bonding*); **(IV)** por fim, isolar a região microsoldada com outra resina. Finalmente, foram soldadas pinos torneados DIP nos terminais da placa, com intuito de estabelecer a interface com circuitos externos.

4.4. Caracterização

De modo geral, a etapa de caracterização visa avaliar o desempenho do dispositivo e identificar possíveis falhas ocorridas durante os processos de fabricação, além de verificar sua viabilidade para usos práticos. Dada a natureza dos processos inerentes a interface eletrodo/eletrólito estabelecida pelos microeletrodos, alguns dispositivos foram submetidos à técnicas de caracterização eletroquímica.

Foram realizadas medidas de Voltametria Cíclica (VC) e Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE): o primeiro consiste na obtenção de voltogramas (diagramas de tensão *versus* corrente) através da aplicação de um pulso triangular entre os eletrodos de trabalho e referência, e medição da corrente induzida entre o eletrodo de trabalho e contra eletrodo; já o segundo baseia-se na obtenção da impedância em relação à frequência de um potencial AC aplicado. Tais métodos permitem avaliar a viabilidade e desempenho dos dispositivos tanto para o registro quanto para o estímulo da atividade neural.

A identificação dos tipos de processos que ocorrem na interface, por exemplo, permite aferir o intervalo de estímulo ideal do dispositivo, de forma a evitar a produção de espécies reativas potencialmente danosas ao meio biológico. Já a impedância permite afirmar se a sonda neural será capaz de efetuar registros de neurônios isolados (*single unit*) ou de um grande conjunto neuronal (*multi unit; local field potencial, LFP*). As medições foram realizadas em tampão PBS (do inglês *phosphate-buffered saline*, pH 7.2) com um potenciostato (*Metrohm, Autolab PGSTAT302N*) e eletrodos de Pt (contra eletrodo, CE; eletrodo de referência, RE), sendo os microeletrodos das sondas neurais os eletrodos de trabalho (WE). Os dados foram coletados com o *software* de controle NOVA, nativo do equipamento. Além disso, foi feito uso de uma gaiola de *Faraday* durante as medições a fim

de eliminar interferências externas. A Figura 4.9 ilustra a montagem da célula eletroquímica e o equipamento utilizado.

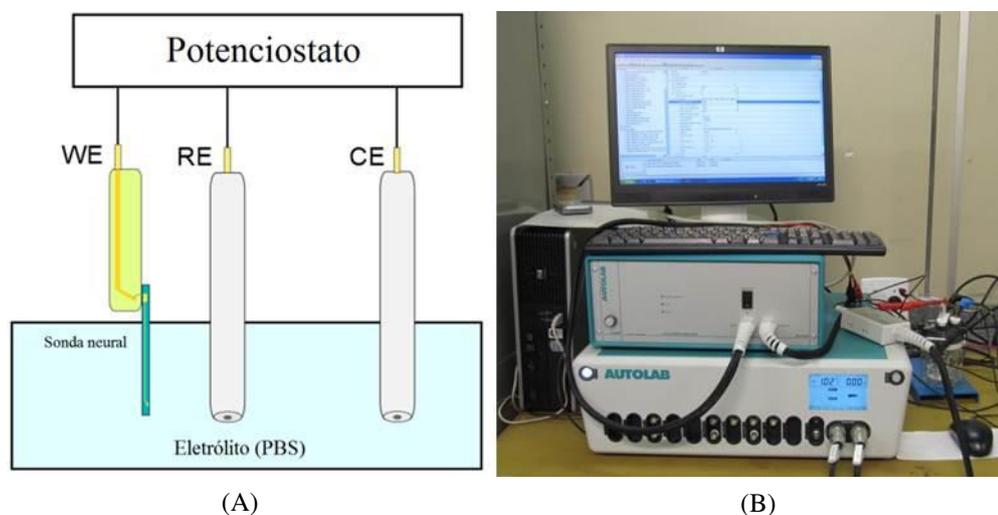


Figura 4.9: Equipamentos para caracterização eletroquímica. (A) Representação da célula eletroquímica montada. WE: *working electrode* (eletrodo de trabalho). RE: *reference electrode* (eletrodo de referência). CE: *counter electrode* (contra eletrodo). Imagem cedida por Jesus Arbey; (B) Potenciostato utilizado.

4.5. Aplicações práticas

Por fim, alguns dos protótipos fabricados foram submetidos a aplicações práticas em eletrofisiologia com intuito de avaliar a viabilidade dos dispositivos para estudos *in vivo*. É importante ressaltar que todos os testes práticos foram realizados por neurocientistas com o acompanhamento do aluno.

Preliminarmente, foi verificada a estabilidade mecânica das sondas durante inserção no córtex de rato, utilizando o cadáver de um animal. Subsequentemente, foram realizados testes *in vivo* em ratos e camundongos. Em particular, foi executado um experimento de optogenética em camundongo empregando tanto algumas das sondas neurais fabricadas quanto sondas neurais comerciais para registrar a atividade neural incitada por estímulo óptico.

4.6. Infraestrutura

A maioria dos processos de microfabricação, confecção das máscaras litográficas, empacotamento e caracterização eletroquímica foram realizados no Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer (CTI). Alternativamente à sala limpa do CTI, alguns testes e etapas de fabricação foram realizadas no Centro de Componentes Semicondutores (CCS,

Unicamp), e parte das máscaras litográficas foram produzidas no Laboratório Multiusuário do IFGW (Lamult, Unicamp). Além disso, as metalizações foram realizadas no Laboratório Nacional de Nanotecnologia (LNNano, CNPEM) e Laboratório de Pesquisas em Dispositivos (LPD, IFGW, Unicamp). Já os testes das sondas neurais em animais foram realizados junto ao Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da Ciência em Animais de Laboratório (CEMIB, UNICAMP) em colaboração com o Prof. Dr. André Vieira, e ao laboratório de Neurodinâmica do Instituto do Cérebro (UFRN), coordenado pelo Prof. Dr. Richardson Leão.

5. Resultados e Discussão

Este trabalho objetivou o entendimento e estabelecimento da tecnologia de projeto, microfabricação e caracterização de sondas neurais poliméricas, tendo em vista o desenvolvimento e aplicação de microdispositivos em neurociências, em particular para o registro *in vivo* da atividade neural de modelos animais. Nesta seção serão apresentados e discutidos os resultados obtidos durante a execução deste trabalho seguindo-se a metodologia descrita anteriormente.

5.1. Design

5.1.1. *Script* desenvolvido

Inicialmente, foi desenvolvido um *script* capaz de gerar designs de sondas neurais de forma paramétrica a partir de uma geometria base. O algoritmo produzido possibilita a produção tanto de sondas individuais quanto de matrizes do dispositivo, e permite a customização dos projetos por meio da alteração de um número definido de variáveis e parâmetros de proporcionalidade. Isso viabiliza o desenvolvimento de designs com diferentes dimensões, características e números de microeletrodos, facilitando a elaboração de dispositivos com aplicações particulares. A Figura 5.1 ilustra diferentes exemplos de designs com distintas dimensões e características. Todos os designs individuais e *layouts* de máscaras litográficas apresentados nesta seção foram gerados com auxílio do *script* produzido, seguindo-se a metodologia de design proposta.

É importante ressaltar que o *script* foi escrito especificamente para o desenvolvimento de sondas neurais fabricadas pela metodologia utilizada neste trabalho, portanto alterações nos processos podem implicar na necessidade de adaptação do código. Ademais, o *script* foi dividido em três partes distintas, porém dependentes entre si, visando a compartimentação do algoritmo em fragmentos com funções específicas. Cada parte gera um arquivo *.gds* de modo a permitir a inspeção visual do design produzido, para isso é utilizado o *software KLayout*. As Figuras 5.2, 5.3 e 5.4 apresentam um fragmento do código desenvolvido (**A**) e o resultado gerado para cada uma das partes (**B**). A primeira é responsável

por delimitar a geometria do dispositivo (Figura 5.2, **B**), para isso foi necessário definir seis parâmetros e quatro atributos (tamanho do dispositivo, espessura da área de inserção, e altura e largura da região de conexão); já a segunda importa o formato da parte anterior, gera os elementos do dispositivo (conectores, trilhas e microeletrodos) e marcas de alinhamento (Figura 5.3, **B**), completando o dispositivo. Nesta parte são necessários definir dez parâmetros, declarar as quatro variáveis da parte anterior e mais quatro dos elementos adicionais (raio e número dos microeletrodos, período e espessura das trilhas); por fim, a terceira e última parte é encarregada de importar a segunda parte e produzir uma matriz com os dispositivos (Figura 5.4, **B**). Novamente, são necessários declarar os atributos anteriores e definir a quantidades de linhas e colunas da matriz, na qual cada elemento é constituído por duas sondas neurais em sentidos opostos, de forma a ocupar todo o espaço disponível.

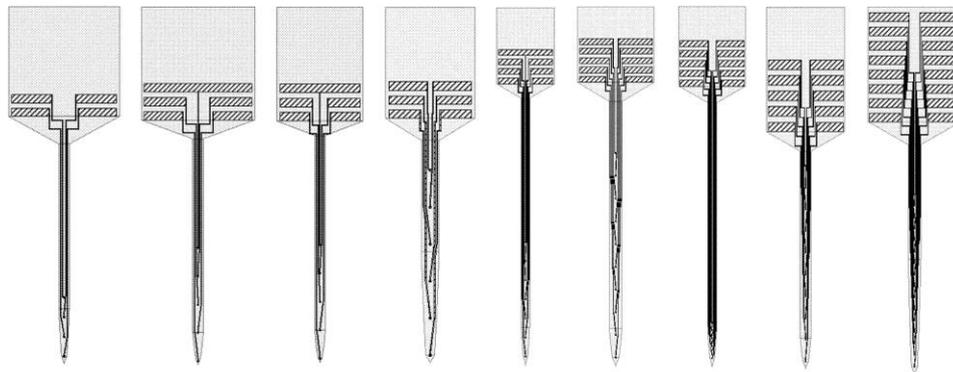


Figura 5.1: Diferentes exemplos de designs de sondas neurais produzidos pelo *script*. Dispositivos fora de escala.

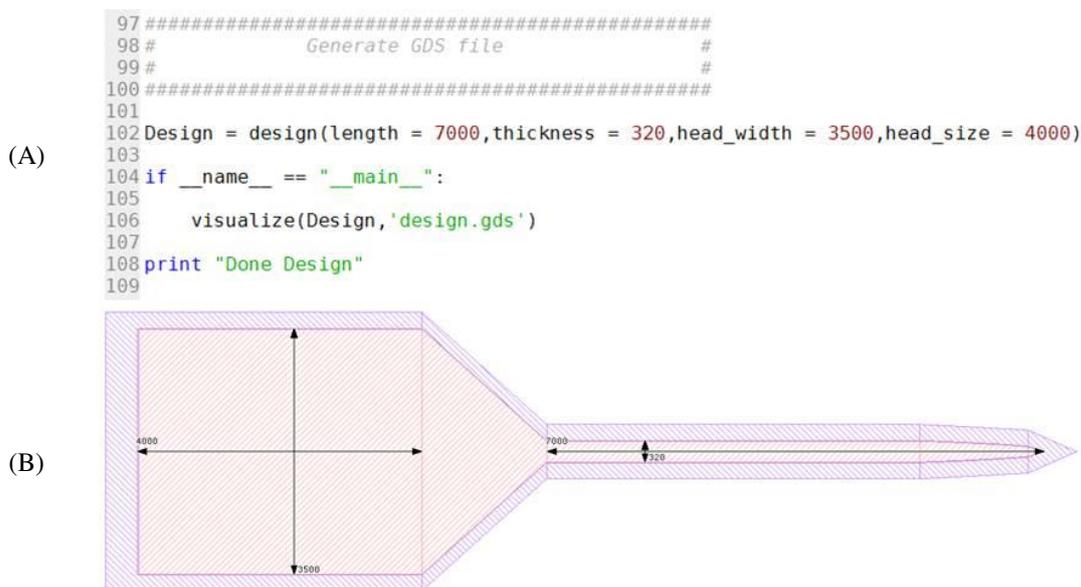


Figura 5.2: Produção do perfil da sonda neural. (A) Fragmento da primeira parte do *script* produzido; (B) Design produzido.

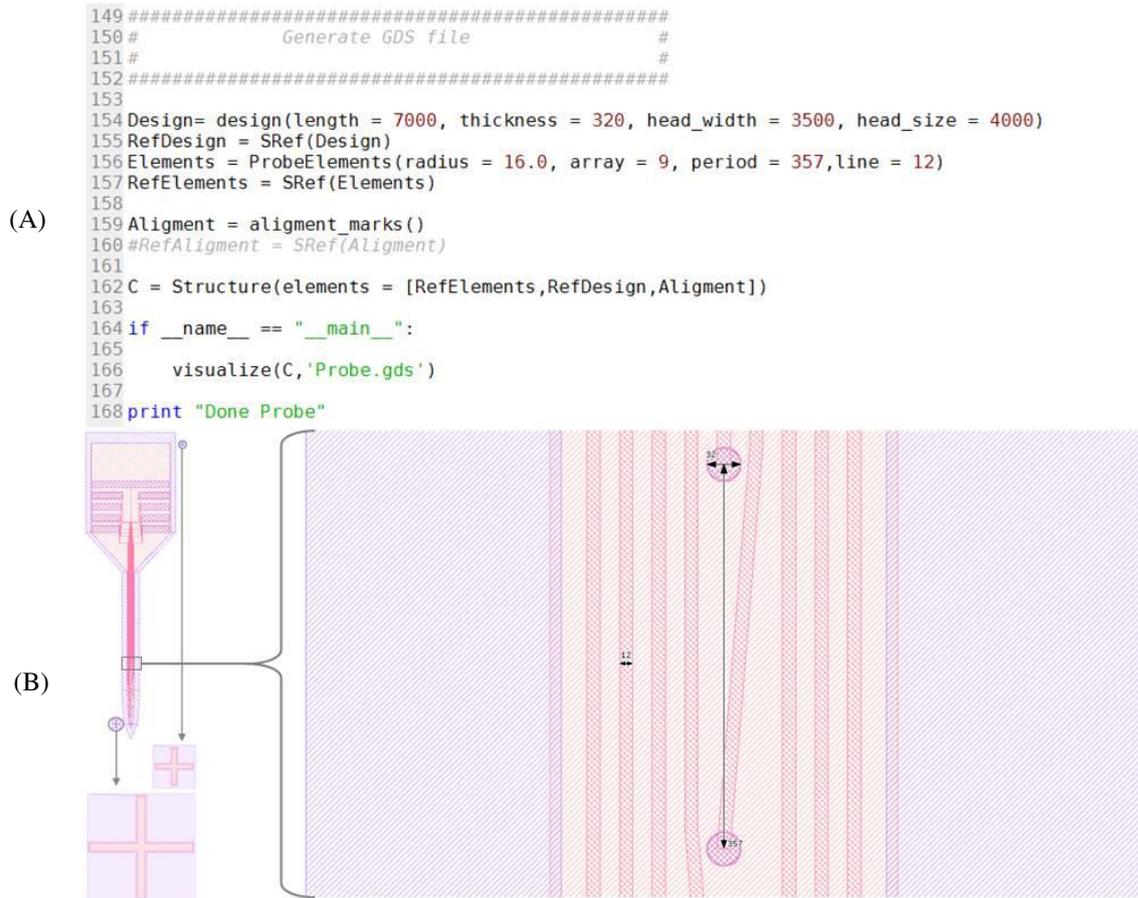


Figura 5.3: Produção da sonda neural. (A) Fragmento da segunda parte do *script* produzido; (B) Design produzido.



Figura 5.4: Produção da matriz de sondas neurais. (A) Fragmento da terceira parte do *script* produzido; (B) Design produzido.

5.1.2. Modelos produzidos

A partir da geometria básica de uma sonda neural (Figura 4.2) foram produzidos quatro diferentes modelos de dispositivos, denominados de **a.**, **b.**, **c.** e **d.**. A princípio foram projetadas e fabricadas sondas neurais de modelo **a.**, posteriormente foram desenvolvidos os modelos subsequentes. A Figura 5.5 e Tabela 5.1 apresentam os designs e as especificações de cada um deles.

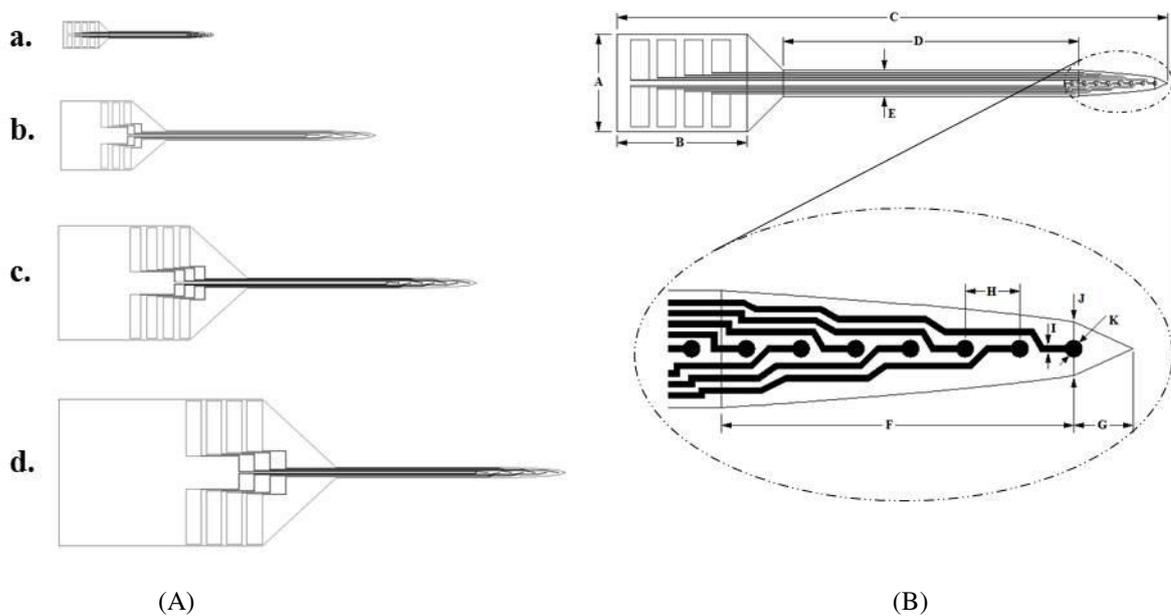


Figura 5.5: (A) Modelos de sondas neurais fabricadas (**a.** - **d.**); (B) Principais dimensões dos dispositivos.

Na Figura 5.5 é possível observar alterações e implementações entre os diferentes designs. Novos requerimentos e especificações constatadas durante a fabricação, empacotamento e caracterização do modelo **a.** foram incorporados nos modelos seguintes. A dificuldade de manipulação do primeiro, dada sua dimensão reduzida e fragilidade, por exemplo, incitaram a ampliação da área de conexão (parâmetros **A** e **B**), aumento dos conectores e a adição de uma região específica para manuseio, inspirada nas sondas desenvolvidas por [29]. Assim, áreas de tamanhos distintos foram adicionadas nos modelos **b.**, **c.** e **d.**, a fim de identificar aquele mais adequado. Vale ressaltar que uma vez que essa região se mantém fixa à placa de circuito impresso seu tamanho não afeta o desempenho do dispositivo, entretanto influencia na área útil do *layout* da máscara litográfica produzida. Ademais, nota-se que a região de inserção foi ampliada (parâmetros **D**, **F** e **G**), com intuito de alcançar regiões mais profundas do córtex. A adição de múltiplos canais (oito para modelos **a.**, **c.** e **d.**, e seis para o modelo **b.**) permite o registro de diversas camadas neuronais

concomitantemente. Já o diâmetro dos microeletrodos (parâmetro **K**) possui dimensões similares às células nervosas.

Tabela 5.1: Especificações das sondas neurais, modelos **a. – d.**

Modelo				
Parâmetros (μm)	a.	b.	c.	d.
A	900	2000	3500	4500
B	1200	2000	4000	6200
C	5090	9000	12750	15450
D	2720	4500	5250	5250
E	220	280	320	320
F	710	1300	1517	1517
G	120	200	233	233
H	110	357	357	357
I	12	12	12	12
J	110	140	160	160
K	28	30	30	30
Nº de microeletrodos	8	6	8	8

Os parâmetros apresentados na Tabela 5.1 foram definidos no *script* produzido para geração automática de sondas neurais, novos designs seriam facilmente compostos mediante alteração destes valores e/ou das constantes introduzidas no código. As dimensões escolhidas são similares a de sondas neurais comerciais e a de outros trabalhos encontrados na literatura [21], e constituem dispositivos que poderiam ser utilizados em experimentos *in vivo*, com as características necessárias para minimizar o dano causado ao tecido durante inserção.

5.1.3. Máscaras litográficas

Finalizado os designs das sondas individuais, foram projetadas e geradas as máscaras a serem utilizadas durante o método de microfabricação descrito na seção anterior. As regiões hachuradas dos *layouts* apresentados a seguir correspondem às áreas onde o Cr é corroído, de forma a permitir a passagem de UV durante o processo de fotolitografia. Os três níveis litográficos utilizados representam estruturas distintas no processo de fabricação das

sondas neurais, e seus *layouts* foram definidos a partir da metodologia proposta e do material utilizado. Os primeiro e terceiro níveis, por exemplo, tem como objetivo expor estruturas sob o fotorresiste negativo SU-8. Neste material, a região exposta mantém-se intacta após a revelação. Por outro lado, o segundo nível tem como propósito expor o fotorresiste positivo AZ 5214, que por sua vez é removido durante a revelação. No que diz respeito a disposição, os dispositivos foram organizados nos *layouts* de forma a favorecer os processos de litografia e aproveitar a área útil das máscaras. Além disso, foram adicionadas marcas de alinhamento nos dispositivos (modelo **a.**) e próximos a eles (modelos **a.**, **b.**, **c.** e **d.**).

A fim de estabelecer a metodologia de produção de máscaras litográficas e dar início aos processos de fabricação, a princípio foi desenvolvido um *layout* contendo sondas neurais de modelo **a.** abrangendo os três níveis litográficos. Para isso, os níveis foram dispostos em três matrizes 2 x 20, totalizando 40 dispositivos. A Figura 5.6 ilustra este *layout* e a máscara produzida. Esta máscara serviu para o entendimento, execução e prática dos primeiros processos de microfabricação das sondas neurais, embora seja possível notar que o último nível (terceira camada: definição da geometria dos dispositivos) tenha sido empregado de forma errônea (campo trocado), visto que o SU-8 é um fotorresiste negativo. Dado o equívoco presente no *layout* esta máscara não foi utilizada para a execução das últimas etapas de fabricação. Além disso, o padrão não havia sido centralizado na máscara durante sua fabricação. Isto aliado a presença de três níveis em um mesmo local dificultou substancialmente o processo de litografia. É importante ressaltar que o segundo nível foi projetado com campo claro para facilitar o processo de alinhamento. Entretanto, é necessário fazer uso da técnica de inversão de imagem para que o padrão desejado seja removido e não o contrário, uma vez que o AZ 5214 é um fotoressite positivo.

Subsequentemente, os diferentes níveis litográficos foram separados, com as devidas correções, em três máscaras distintas possibilitando o aumento para 120 sondas neurais. A Figura 5.7 apresenta os *layouts* individuais gerados e as máscaras produzidas.

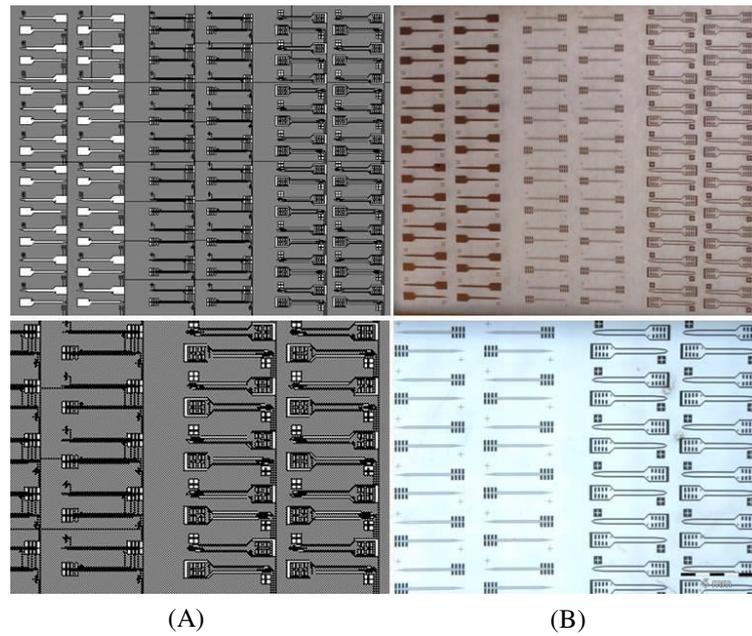


Figura 5.6: *Layout* e máscara para sonda neural modelo **a**. contendo os três níveis litográficos. **(A)** *Layout* gerado; **(B)** Máscara produzida.

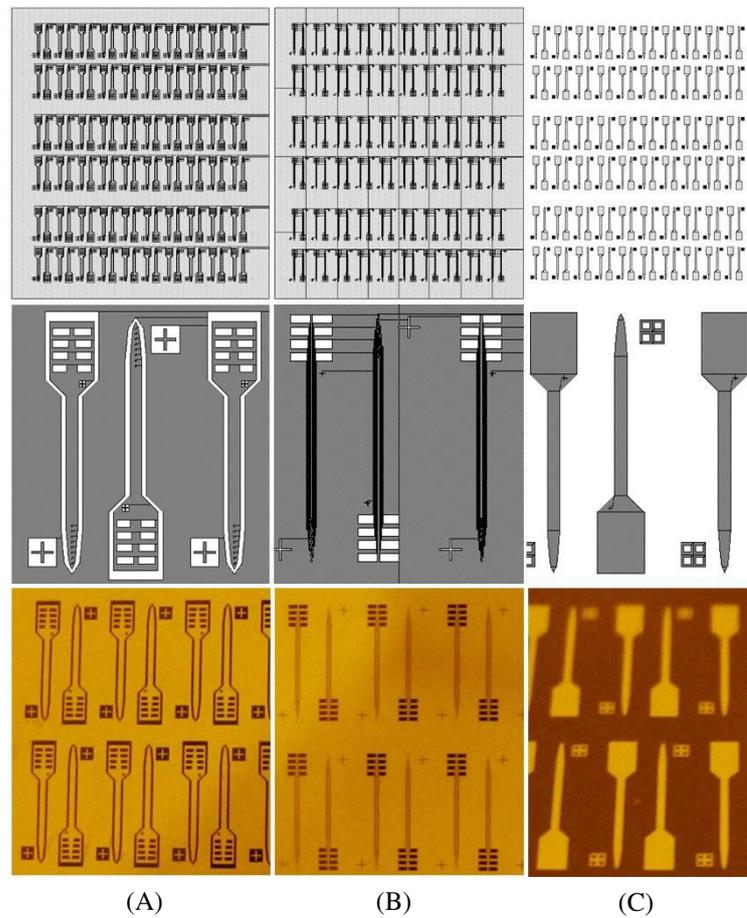


Figura 5.7: *Layouts* e máscaras dos três níveis litográficos para sonda modelo **a**. **(A)** Primeiro nível: Definição do perfil das sondas neurais, conectores e microeletrodos; **(B)** Segundo nível: Definição dos conectores, trilhas e microeletrodos; **(C)** Terceiro nível: Definição do perfil das sondas neurais.

Por fim, foram projetadas e fabricadas as máscaras contendo as sondas neurais de modelos **b.**, **c.** e **d.**, a Figura 5.8 exibe os *layouts* e máscaras produzidas. A experiência obtida com o uso das máscaras anteriores motivou a alteração de algumas estruturas do *layout* para os modelos seguintes. A marca de alinhamento que havia sido posicionada dentro do dispositivo de modelo **a.**, por exemplo, foi retirada visto que não apresentava benefício frente as outras marcas presentes. Além disso, com intuito de minimizar os efeitos dos erros de alinhamento as dimensões do perfil do dispositivo presente no terceiro nível, e dos microeletrodos e *pads* contidos no segundo foram ampliados. Desta forma, foram adicionados uma tolerância de 1 μm para os microeletrodos e de 10 μm para ambos o perfil do dispositivo e *pads*, como ilustrado na Figura 5.9. Os três modelos de sondas neurais foram adicionados em um mesmo *layout* separados em três matrizes, dada as diferentes dimensões cada uma delas comportou quantidades distintas de dispositivos.

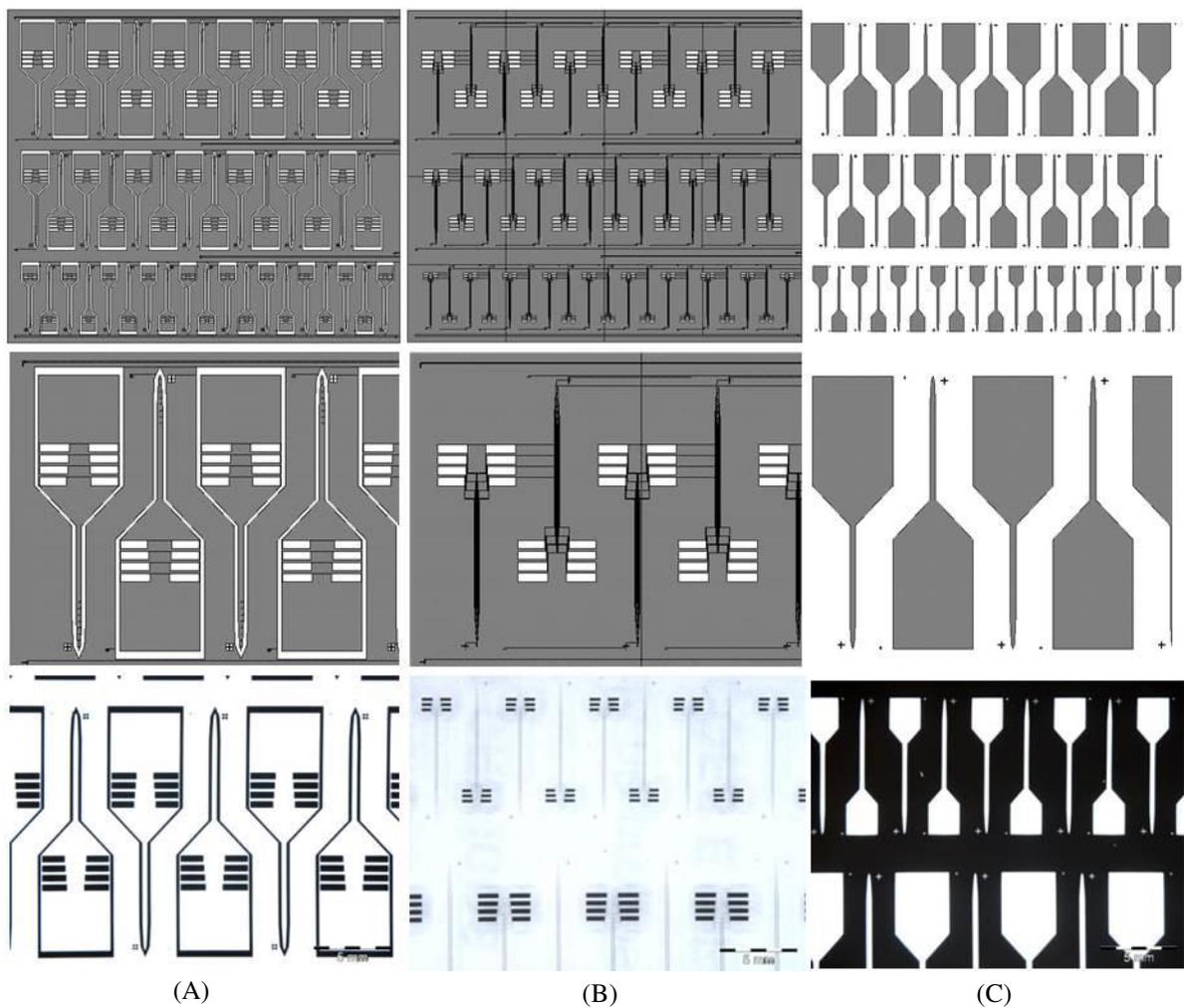


Figura 5.8: *Layouts* e máscaras dos três níveis litográficos para sondas modelos **b.**, **c.**, e **d.**. **(A)** Primeiro nível: Definição do perfil das sondas neurais, conectores e microeletrodos; **(B)** Segundo nível: Definição dos *pads*, trilhas e microeletrodos; **(C)** Terceiro nível: Definição do perfil das sondas neurais.

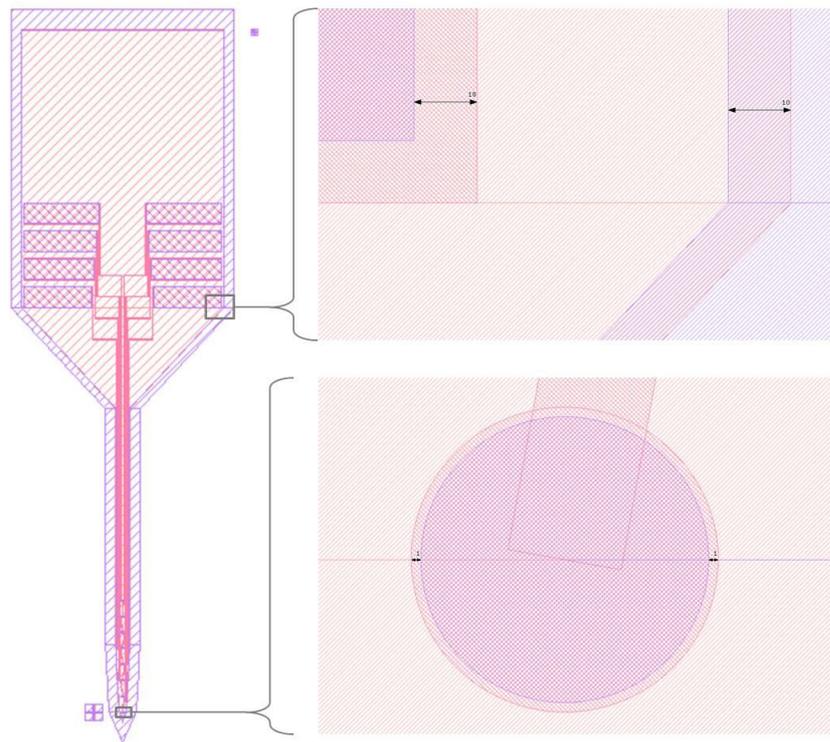


Figura 5.9: Tolerância introduzida ao *layout* das máscaras litográficas contendo as sondas neurais de modelos **b.**, **c.** e **d.**. Para o perfil dos dispositivos e *pads* de contato foram adicionados 10 μm , já para os microeletrodos foi inserido 1 μm .

Ademais, vale ressaltar que durante a execução do projeto houve a necessidade de repetir a produção de algumas destas máscaras. Erros de centralização do *layout* e defeitos de fabricação foram constatados em máscaras para a sonda de modelo **a.** Em particular, durante o uso daquelas fabricadas para os modelos seguintes foi observado que os padrões não concordavam entre si, impossibilitando o alinhamento dos dispositivos. Neste caso, parte das máscaras haviam sido fabricadas por um instrumento (*Heidelberg Instruments, $\mu\text{PG 101}$*) e parte em outro (*Heidelberg Instruments, DWL 66*). Medidas realizadas (*Mitutoyo, Vision Measuring System*) constataram que, de fato, os padrões não estavam em mesma escala, sugerindo que as diferentes calibrações dos equipamentos resultaram em máscaras incompatíveis. A utilização da mesma máquina de litografia a laser para fabricação da trinca de máscaras foi o suficiente para corroborar esta hipótese, visto que eliminou a efeito indesejado.

5.2. Fabricação

Após a geração dos designs e das máscaras litográficas, foram produzidas as sondas neurais de diferentes modelos seguindo-se a metodologia de fabricação descrita na seção anterior. Os protocolos utilizados neste estágio estão descritos no Apêndice A, e os parâmetros utilizados foram obtidos mediante extensa e contínua caracterização. Os materiais disponíveis e utilizados para metalização foram: TiN, Ti, Ti/Au e Cr/Au. Vale notar que os metais Ti e Cr servem como materiais de aderência para o Au. As sondas neurais de modelo **a.** foram fabricadas sob substratos de Si e vidro, ambos com Al depositado como camada sacrificial. Já os modelos seguintes foram fabricados somente sob substratos de vidro sem a deposição de uma camada sacrificial.

As Figuras 5.10 – 5.17 ilustram imagens de microscopia óptica dos produtos obtidos após a execução de diferentes etapas do processo de fabricação. A Figura 5.10 ilustra o resultado adquirido após a deposição da primeira camada de SU-8 para o dispositivo de modelo **a.** (etapa **(V)**) em diferentes substratos. É possível notar a boa definição obtida para ambos materiais. Esta etapa foi realizada com sucesso para os diferentes modelos de sondas neurais com espessuras entre 200 - 1500 nm de SU-8 2. As camadas menos espessas foram alcançadas com a diluição do SU-8 em ciclopentanona (Apêndice A). Além disso, este processo se mostrou sensível ao material sob o qual o SU-8 havia sido depositado (Al ou vidro), visto que doses distintas foram necessárias para definição exata dos perfis durante o processo de litografia. Por um lado doses baixas permitem a remoção indesejada do material durante a revelação, por outro lado altas doses afetam áreas que não deveriam ser expostas, impedindo sua remoção. Os parâmetros ótimos para a exposição de SU-8 2, tanto sob vidro quanto Al, foram definidos mediante caracterização. O valor estabelecido se mantém constante para a faixa de espessura utilizada, e independe do substrato em que o Al havia sido depositado. A Figura 5.11 ilustra os resultados obtidos após a exposição de SU-8 2 sob Al com o uso de diferentes doses. Nota-se que para a dose de 10 mJ/cm^2 o padrão esperado é concebido perfeitamente, já para doses superiores é possível observar defeitos na definição do padrão e resíduos indesejados de SU-8. Para 25 mJ/cm^2 parte do SU-8 é exposto de forma não intencional, sendo possível observar a diminuição da área efetiva dos microeletrodos assim como a existência de uma borda fina de SU-8 acompanhando o perfil do dispositivo e marcas de alinhamento. Já para 40 mJ/cm^2 nota-se claramente a existência de resquícios de SU-8, em particular no centro das aberturas. Portanto, dada a dimensão dos microeletrodos o uso de doses incorretas pode afetar de forma substancial sua área final. Desta forma, quando obtidos

resultados insatisfatórios, o substrato era submetido ao processo de remoção de SU-8 e repetição do protocolo.

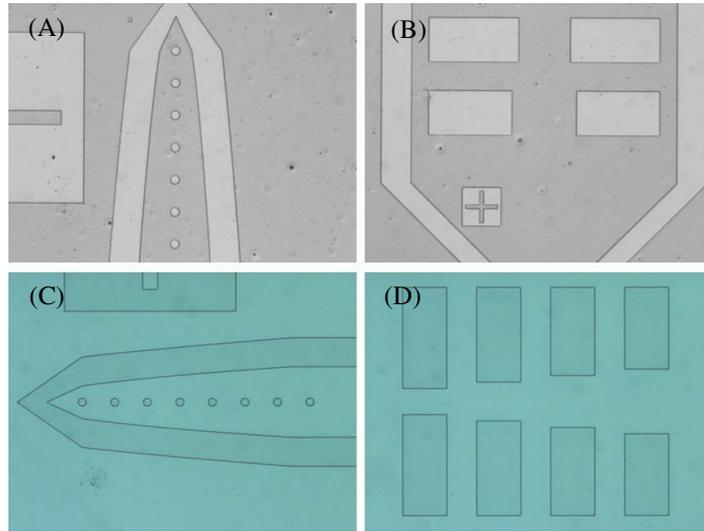


Figura 5.10: Definição do primeiro nível de SU-8 para dispositivos de modelo **a**. (etapa **V**) – delimitação do perfil das sondas neurais). **(A)** Região de inserção e microeletrodos, depositado sob Al; **(B)** Região de conexão, depositado sob Al; **(C)** Região de inserção e microeletrodos, depositado sob vidro; **(D)** Região de conexão, depositado sob vidro.

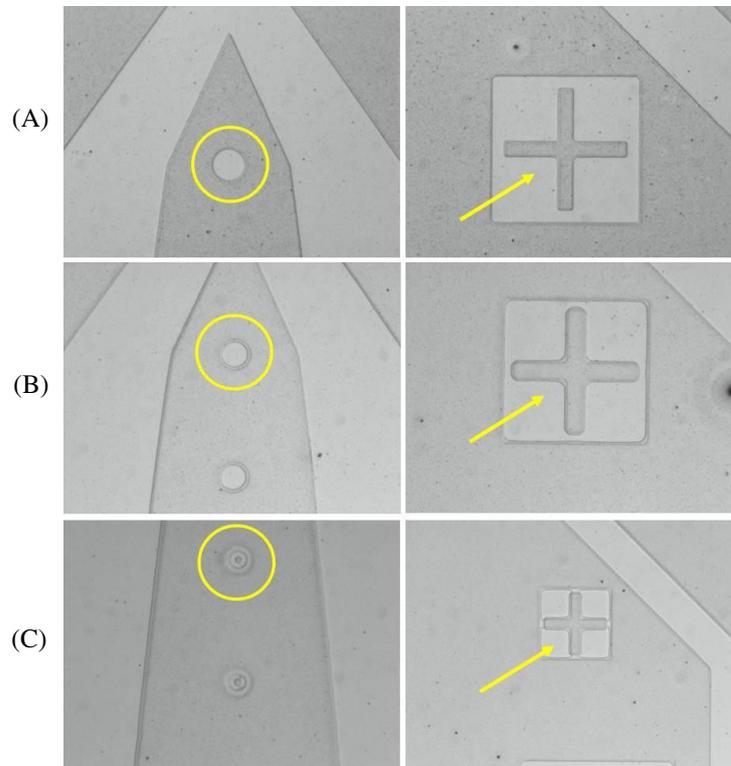


Figura 5.11: Primeira camada de SU-8 exposta com doses distintas. **(A)** Microeletrodo (círculo amarelo) e marca de alinhamento (seta amarela) expostos a 10 mJ/cm^2 ; **(B)** Microeletrodo e marca de alinhamento expostos a 25 mJ/cm^2 ; **(C)** Microeletrodo e marca de alinhamento expostos 40 mJ/cm^2 . É possível observar que em **(A)** o padrão desejado está perfeitamente definido, sem SU-8 residual.

A Figura 5.12 apresenta os resultados obtidos logo após o procedimento de *lift-off* (etapa **(X)**) utilizando-se diferentes metais (TiN, Ti/Au). Anteriormente a esta etapa é realizado o processo de inversão de imagem, que consiste em: deposição ($\approx 1,5 \mu\text{m}$) e duas exposições sucessivas do fotorresiste positivo AZ 5214, com cozimentos intermediários (vide Apêndice A). Isso permite a impressão do padrão correto, dada a natureza do fotorresiste e o campo da máscara utilizada. Subsequentemente são depositados os metais desejados via *sputtering*. Durante o processo de *lift-off* em si a amostra é imersa em acetona com intuito de dissolver o resiste e definir os microeletrodos, trilhas e conectores. Para boa execução do processo é necessário que o fotorresiste tenha sido depositado corretamente, visto que resíduos de AZ 5214 podem danificar áreas metalizadas durante sua dissolução, e danos no resiste permitem a deposição do metal em regiões indesejadas. Além disso, a alta pressão do vapor da acetona possibilita a reabsorção do metal já eliminado [44], permitindo a formação de regiões metalizadas aleatórias na amostra. Para assistir o *lift-off* o processo foi realizado sob ultrassom, entretanto, se utilizado excessivamente há a possibilidade de danificar a estrutura do metal depositado. Passar lentamente um cotonete com acetona sob o metal também se mostrou útil, no entanto, seu uso pode facilmente romper o metal da área desejada e/ou comprometer o SU-8 depositado anteriormente. Na Figura 5.12 **(B)** é possível notar pequenas regiões onde o metal não saiu conforme o esperado, permitindo o contato entre duas ou mais trilhas.

A Figura 5.13, por sua vez, ilustra os possíveis danos e defeitos descritos anteriormente. As Figura 5.13 **(A)** e **(B)** apresentam áreas onde não deveriam estar metalizadas, provavelmente causadas pela má exposição ou danificação do fotorresiste anteriormente a metalização, de forma a permitir a deposição do metal. Na Figura 5.13 **(B)** também é possível observar a reabsorção do metal em regiões originalmente não metalizadas. Já na Figura 5.13 **(C)** pode-se notar que há regiões interrompidas, dano geralmente promovido durante o uso do ultrassom, cotonete ou causado pela remoção de resiste residual na área durante o *lift-off*. A Figura 5.13 **(D)** ilustra trilhas imperfeitas, causadas pela má definição obtida durante a litografia do processo de inversão de imagem. A Figura 5.13 **(E)**, por sua vez, apresenta o contraste entre um *pad* normal e outro incompleto, com dano suscitado pelo uso do ultrassom. Por fim a Figura 5.13 **(F)** também ilustra a reabsorção dos metais durante o *lift-off*. Nota-se, portanto, que a obtenção de um bom resultado depende intrinsecamente do sucesso da execução do processo de *lift-off*, para isso é necessário que cada etapa seja devidamente caracterizada e otimizada.

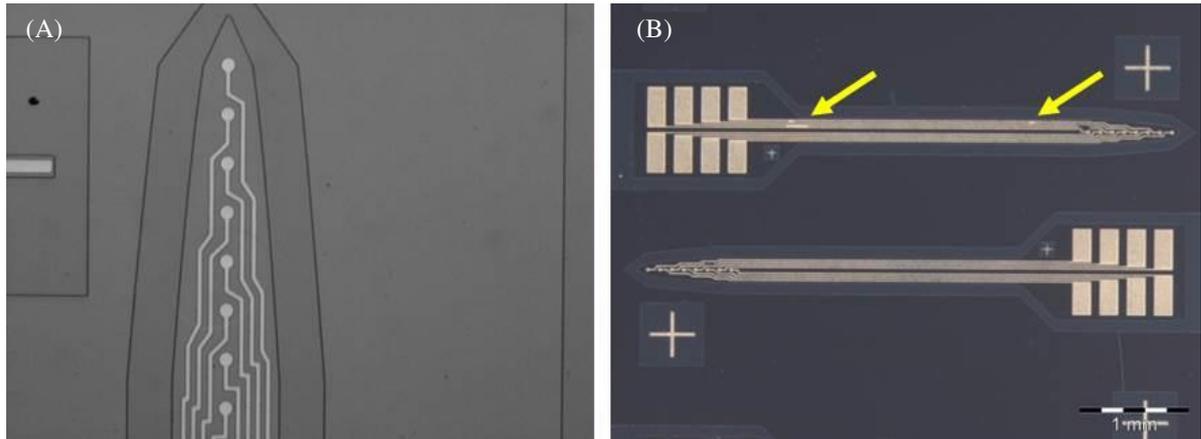


Figura 5.12: Metalização e *lift-off* (etapa **X**), sonda modelo **a.**) (A) Trilhas e microeletrodos definidos com TiN; (B) Trilhas, conectores e microeletrodos definidos com Ti/Au.

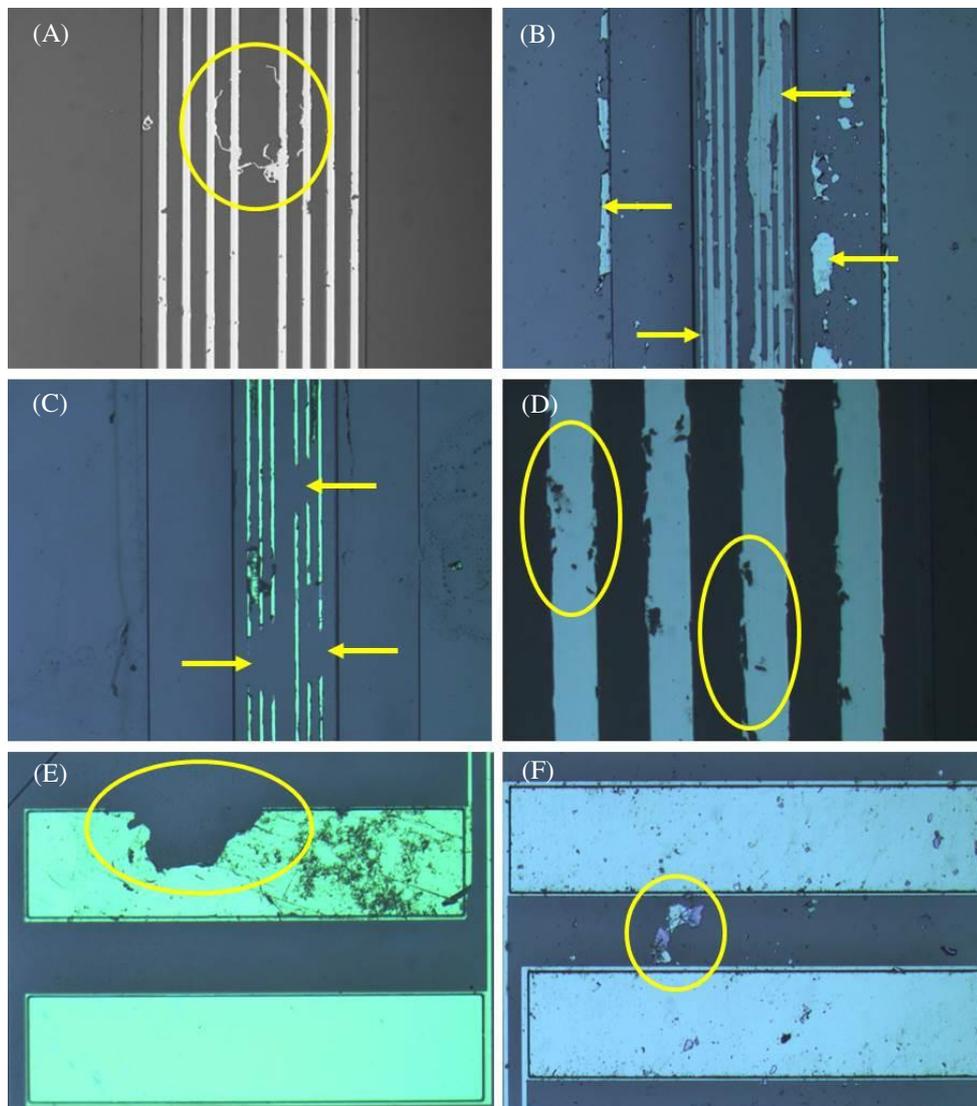


Figura 5.13: Possíveis danos associados ao *lift-off*. (A) Metalização em áreas indesejadas; (B) Reabsorção do metal e metalização em áreas indesejadas; (C) Danificação das áreas metalizadas; (D) Má definição dos padrões expostos; (E) Danificação das áreas metalizadas; (F) Reabsorção do metal.

Além disso, erros de alinhamento foram comuns durante a execução do trabalho, muitas vezes provocados por fatores externos ao processo de fotolitografia em si, como defeitos nas máscaras. As sondas neurais de modelo **a.** foram mais susceptíveis ao erro, visto que suas máscaras não apresentavam a tolerância introduzida nos modelos posteriores. A Figura 5.14 ilustra sondas neurais com erros de alinhamento. As imagens apresentam desalinhamentos entre os primeiro e segundo níveis. Tal erro diminui consideravelmente a área efetiva dos microeletrodos e afeta diretamente no valor da impedância e, portanto, no desempenho do dispositivo.

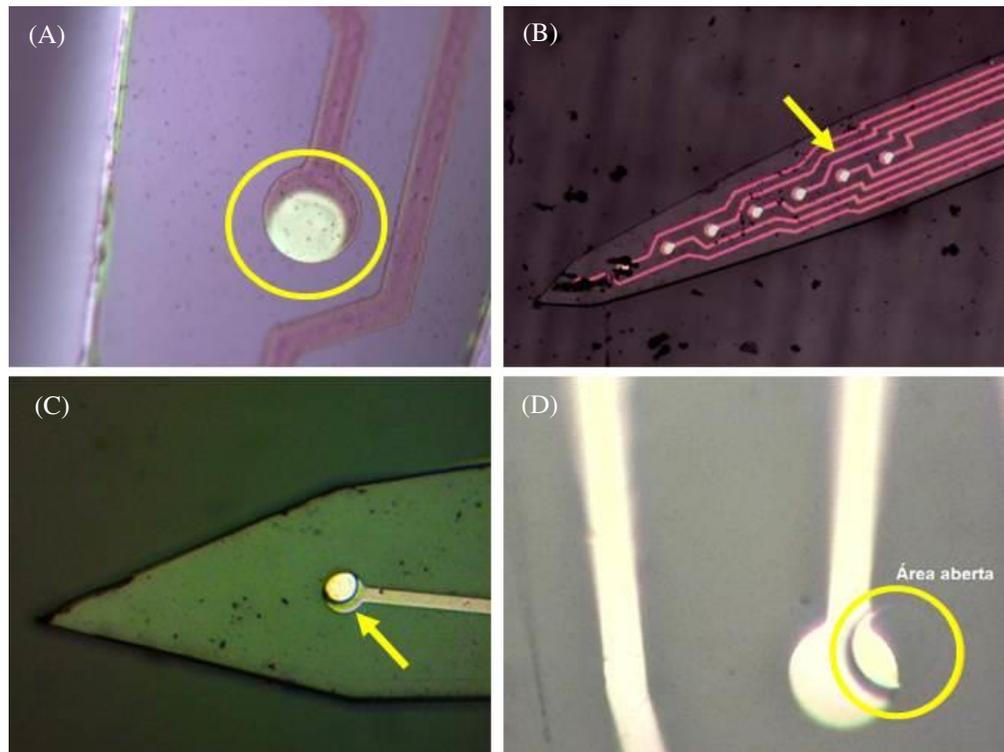


Figura 5.14: Erros de alinhamento entre os primeiro e segundo níveis. Nota-se a variabilidade da área efetiva dos microeletrodos. (D) Imagem cedida por *Jesus Arbey*.

Após a metalização foi depositado uma camada de aproximadamente 50 μm de SU-8 50 sob a amostra, para subsequente exposição do terceiro nível (etapas **(XI)** e **(XII)**; delimitar o perfil dos dispositivos). Esta camada tem como objetivo isolar as regiões metalizadas e definir a espessura final do dispositivo, de modo que seja capaz perfurar o tecido nervoso. A Figura 5.15 apresenta imagens de dispositivos finalizados ainda fixos ao substrato (etapa **(XIII)**). Nestes dispositivos foram depositados TiN, Ti e Cr/Au para formação das regiões condutoras, com obtenção de resultados similares. Nas Figuras 5.15 **(A)** e **(B)** é possível observar as trilhas e microeletrodos, assim como parte da região de conexão. Já as Figuras 5.15 **(C)** e **(D)** correspondem a mesma área, entretanto, focos distintos foram

utilizados para definir as diferentes camadas de SU-8. As Figuras 5.15 (E) e (F) apresentam as regiões de conexão e inserção, respectivamente. As Figuras 5.15 (G) e (H), por sua vez, demonstram os microeletrodos. Em ambas imagens é possível notar a diferença de diâmetros adotada entre os *layouts* do primeiro e segundo níveis, de forma que os desvios no alinhamento não interferiram na área efetiva dos microeletrodos. Na Figura 5.15 (H), entretanto, observa-se grande diferença entre a abertura e a área metalizada, provavelmente causada pela alta exposição do primeiro nível de SU-8.

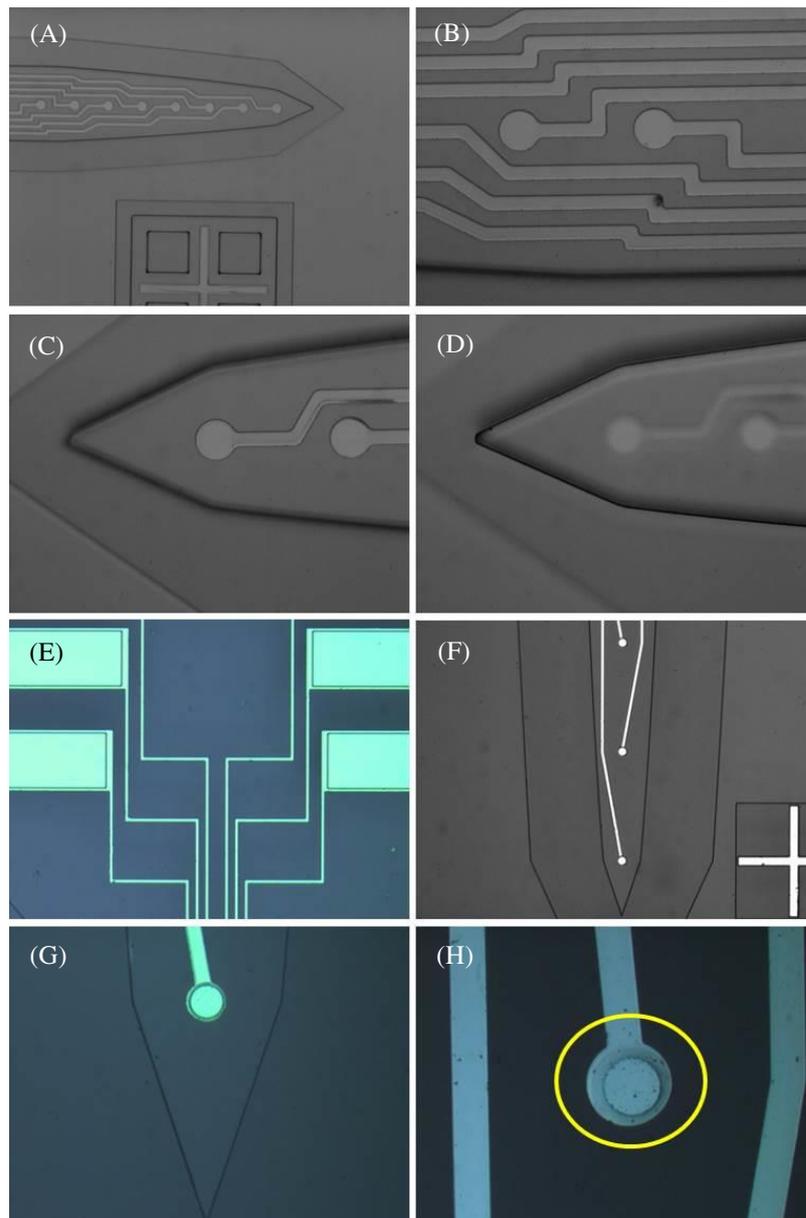


Figura 5.15: Dispositivos finalizados fixos ao substrato (etapa **(XIII)**). (A) Região de inserção e microeletrodos (TiN); (B) Trilhas e microeletrodos (TiN); (C) Microeletrodos. Imagem focada na primeira camada de SU-8 (TiN); (D) Microeletrodos. Imagem focada na segunda camada de SU-8 (TiN); (E) Conectores e trilhas (Cr/Au); (F) Região de inserção e microeletrodos (Cr/Au); (G) Microeletrodo (Cr/Au); (H) Microeletrodo (Ti).

A deposição da segunda camada de SU-8 também foi susceptível ao erro. Na Figura 5.16 é possível identificar erros de alinhamento entre as duas camadas de SU-8 (primeira e terceira camadas). Esta imprecisão fragiliza os dispositivos e os tornam impróprios para inserção, dada a vulnerabilidade da camada menos espessa de SU-8.

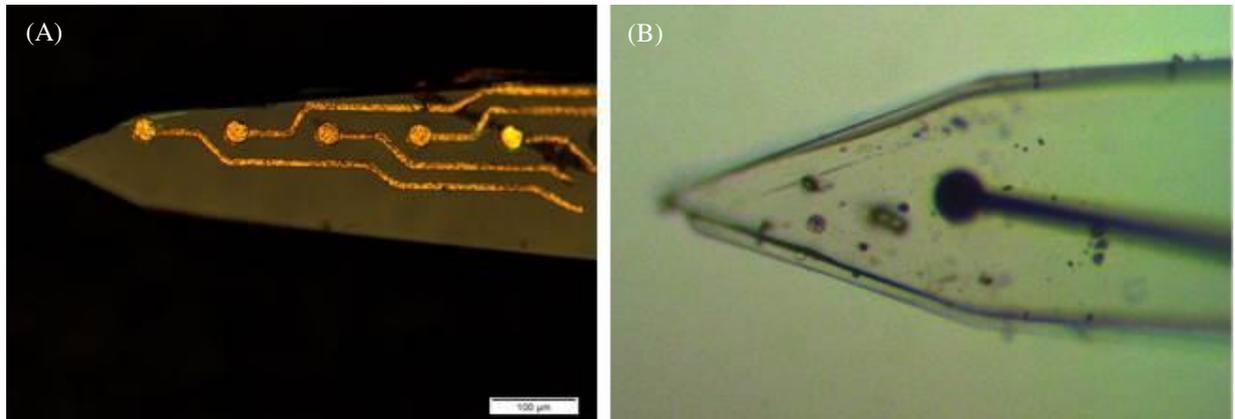


Figura 5.16: Erros de alinhamento entre as duas camadas de SU-8 (primeiro e terceiro níveis).

A Figura 5.17 exibe imagens de sondas neurais finalizadas (TiN, Cr/Au) já extraídas do substrato. Nas Figuras 5.17 (A) e (B) é possível observar a região de inserção, já as Figuras 5.17 (C) e (D) apresentam os microeletrodos. O contraste observado entre as diferentes regiões indica a abertura dos microeletrodos. Na Figura 5.17 (C) fica claro a existência de desalinhamento entre os diferentes níveis. Observa-se que a abertura está posicionada abaixo da região metalizada, além disso nota-se na borda da sonda uma fina camada de SU-8 exterior ao dispositivo.

A Figura 5.18 apresenta imagens de microscopia eletrônica de uma sonda neural modelo **a**. com TiN depositado. Na Figura 5.18 (A) é possível observar com detalhe a ponta da região de inserção e os microeletrodos. Além disso, nota-se a planaridade dos microeletrodos resultante do processo de fabricação. Já as Figuras 5.18 (B) e (C) demonstram o perfil vertical obtido pela litografia do SU-8. É possível, também, notar um pequeno desalinhamento entre os níveis. Os microeletrodos estão levemente deslocados e a região clara sob as sondas nas Figura 5.18 (B) e (C) correspondem a primeira camada de SU-8. Vale ressaltar que os pontos claros encontrados sob a sonda neural são materiais contaminantes proveniente dos processos anteriores e principalmente da manipulação dos dispositivos em meio externo à sala limpa.

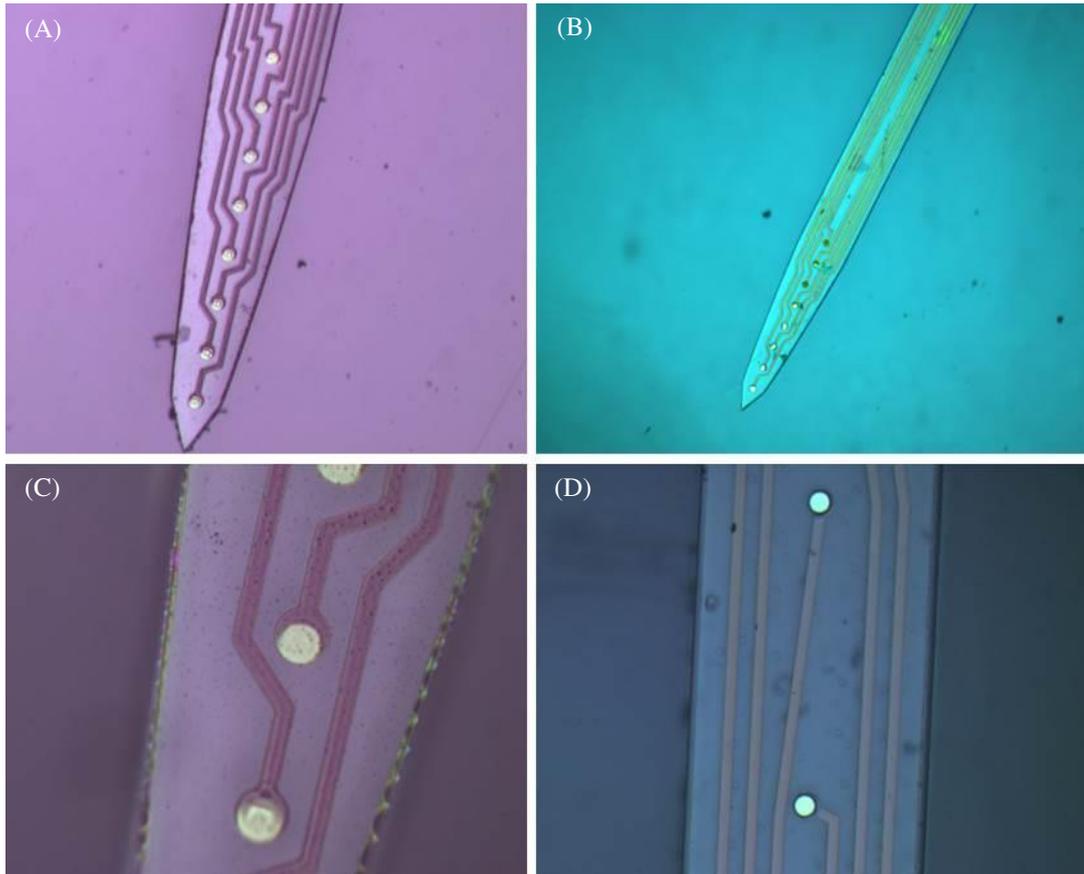


Figura 5.17: Dispositivos finalizados. (A) e (B) Região de inserção e microeletrodos (TiN); (C) Microeletrodos (TiN); (D) Microeletrodos (Cr/Au).

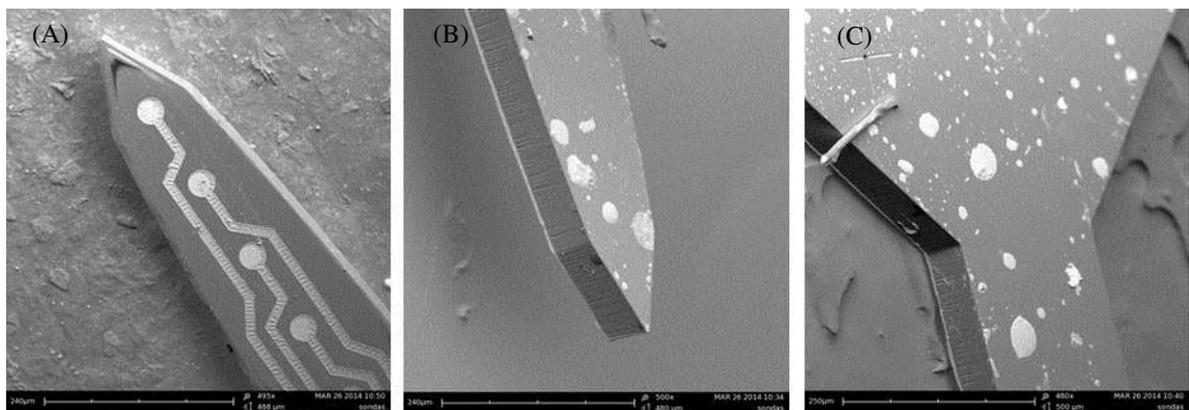


Figura 5.18: Microscopia eletrônica de uma sonda neural (modelo a., TiN). (A) Ponta da região de inserção e microeletrodos; (B) Imagem do lado inferior; (C) Interface entre as regiões de conexão e inserção.

O processo de liberação das sondas neurais do substrato se mostrou um desafio e como uma etapa essencial para obtenção de dispositivos funcionais com alta reprodutibilidade. A eliminação da camada sacrificial de Al foi efetuada por corrosão química com uso de KOH. Por outro lado foi experimentado um *etchant* específico para Al disponível no laboratório, que entretanto, não se mostrou uma opção viável visto que reagia de forma

indesejada com o SU-8, alterando sua coloração. O processo com KOH é ágil (na ordem de segundos), com alta taxa de corrosão e foi realizado com sucesso para sondas neurais metalizadas com TiN e Ti/Au. As amostras foram inseridas no recipiente com o agente químico por alguns segundos e depois introduzidos em um outro com água, dividindo a liberação das sondas em ambos recipientes. Entretanto, o tempo de contato não foi controlado dada a alta velocidade de reação. O procedimento, portanto, foi realizado de forma visual. Após liberados, os dispositivos foram lavados com água, separados e secos. É interessante notar que o KOH corrói Ti mas não reage com Au, permitindo a eliminação de uma etapa extra para dispositivos com Ti/Au, visto que logo após sua liberação a região metalizada exposta é de Ti. Por fim, o uso de KOH se mostrou factível sob certos aspectos, porém agressivo e limitado no que diz respeito a velocidade de reação e ao material utilizado para metalização, além de ser um processo que exige extrema cautela.

Ademais foram testadas corrosões com diferentes temperaturas e com KOH diluído em água, entretanto, não foram observadas alterações significativas no tempo. Para melhor controle da taxa de corrosão seria interessante fazer estudos mais sistemáticos com temperaturas e diluições variadas, assim como o controle exato do tempo de contato com o químico. Alternativamente à corrosão química o processo de corrosão eletroquímica é uma técnica bem estabelecida que oferece uma ótima opção para liberação dos dispositivos em estudos futuros [21, 30, 31]. Este procedimento permite a corrosão de Al de forma lenta e controlada, além de ser reproduzível e não oferecer risco de dano aos dispositivos. A Figura 5.19 ilustra o processo de liberação de sondas neurais com KOH e o *wafer* restante.

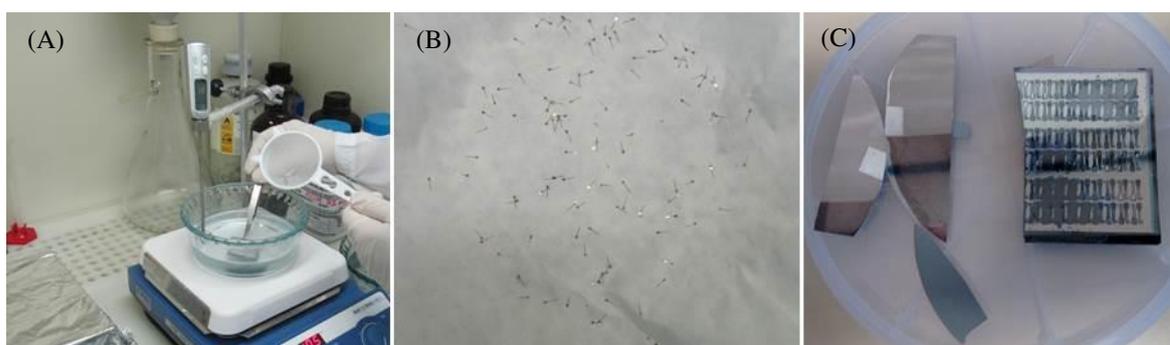


Figura 5.19: (A) Corrosão da camada sacrificial com KOH; (B) Sondas neurais liberadas; (C) *Wafer* restante.

Visando a redução de etapas e custos, a metodologia de fabricação das sondas neurais também foi realizada sob substratos de vidro sem o uso de camada sacrificial. Dispositivos com Ti, Ti/Au e Cr/Au depositados foram produzidos desta forma. Neste caso o processo de liberação das sondas se mostrou mais desafiador e menos reproduzível. Inicialmente, foi utilizado ácido fluorhídrico (HF) para corrosão do vidro e liberação das

sondas, entretanto o HF também corrói o Ti e danificaria as amostras disponíveis. Alternativamente, foi utilizada uma pasta fosqueante para corroer superficialmente o vidro e facilitar a liberação mecânica dos dispositivos através de um fluxo vertical contínuo de água. Apesar de também corroer Ti, a pasta foi utilizada de forma mais seletiva. Este processo foi repetido várias vezes até que todos os dispositivos fossem retirados. A pasta foi aplicada com as amostras aquecidas visando alterar sua consistência e torná-la mais líquida. Por outro lado, foi notado que alguns dispositivos se desprendiam do substrato somente com o aquecimento da amostra e o subsequente contato com a água. Este comportamento, porém, variou conforme o metal utilizado, sondas neurais de Ti/Au e Cr/Au obtiveram um desempenho superior às sondas de Ti. Desta forma, a pasta fosqueante foi utilizada somente para auxiliar a liberação das sondas neurais que não saíam com o ciclo de aquecimento e contato com água a temperatura ambiente.

Nota-se que o processo utilizado foi de natureza empírica e sem controle dos parâmetros envolvidos, de forma a dificultar a reprodutibilidade do procedimento. Muitos dispositivos foram danificados neste processo, o aquecimento da pasta facilitou seu acesso às áreas metalizadas das sondas de Ti, corroendo parte dos conectores e microeletrodos. Além disso, também foi constatado que o fluxo de água pode causar danos aos dispositivos, foi observado a liberação não uniforme de diferentes partes das sondas neurais, verificou-se que a região de inserção se desprendia mais rapidamente, facilitando seu rompimento para fluxos suficientemente elevados. Ademais, em vários casos a liberação mecânica foi danosa para os microeletrodos e *pads*, principalmente para sondas de Ti, muitos deles permaneceram sob o substrato mesmo após a liberação dos dispositivos. Entretanto, para parte das sondas neurais com Cr/Au depositado o Cr permaneceu retido ao substrato enquanto o Au se manteve ao dispositivo.

Embora grande parte dos dispositivos de Cr/Au tenha sido fabricada com sucesso o mesmo não é verdade para sondas de Ti. Futuramente, para melhor controle do processo é necessário o entendimento da aderência tanto do metal quanto do SU-8 sob vidro e da influência da temperatura sob este parâmetro. Além disso, é preciso o estudo da força necessária para retirada dos dispositivos e da taxa de corrosão da pasta fosqueante, assim como de sua eficácia neste processo.

A Figura 5.20 (A) apresenta diferentes amostras com Ti que foram submetidas a esta metodologia e sondas neurais ainda presas ao substrato. Já na Figura 5.20 (B) está destacado as regiões metalizadas que mantiveram-se sobre o substrato. As Figura 5.21 (A) e (B) ilustram o Cr dos microeletrodos e *pads* de Cr/Au, respectivamente, retidos ao substrato

após a liberação dos dispositivos. Na Figura 5.21 (C) é possível notar tanto o Cr dos *pads* quanto uma pequena parte de Au retidas ao substrato. Na Figura 5.21 (D) são apresentados *pads* danificados durante o processo de liberação, parte do Au da região metalizada se encontra ausente.

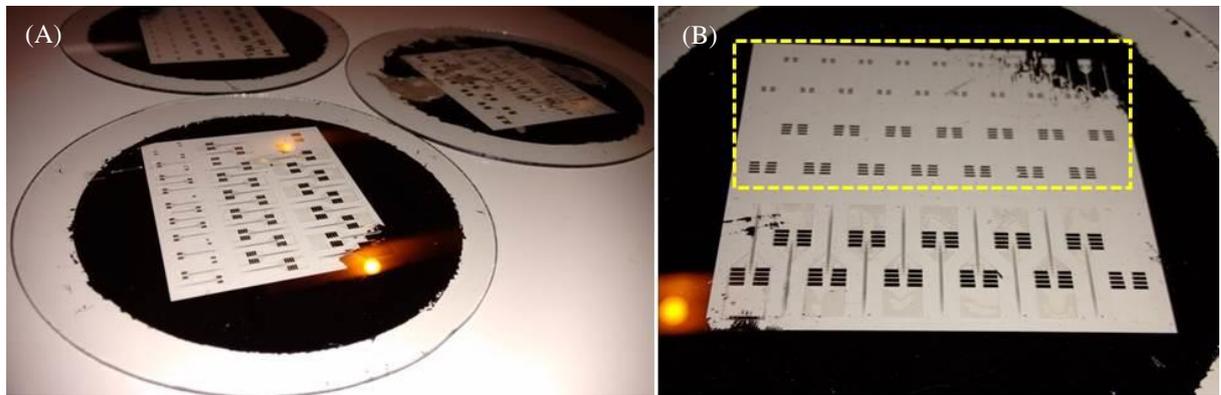


Figura 5.20: (A) Amostras submetidas ao processo de liberação dos dispositivos. É possível notar sondas neurais ainda presas ao substrato; (B) *Pads* que mantiveram-se sob o substrato após liberação das sondas neurais com água corrente.

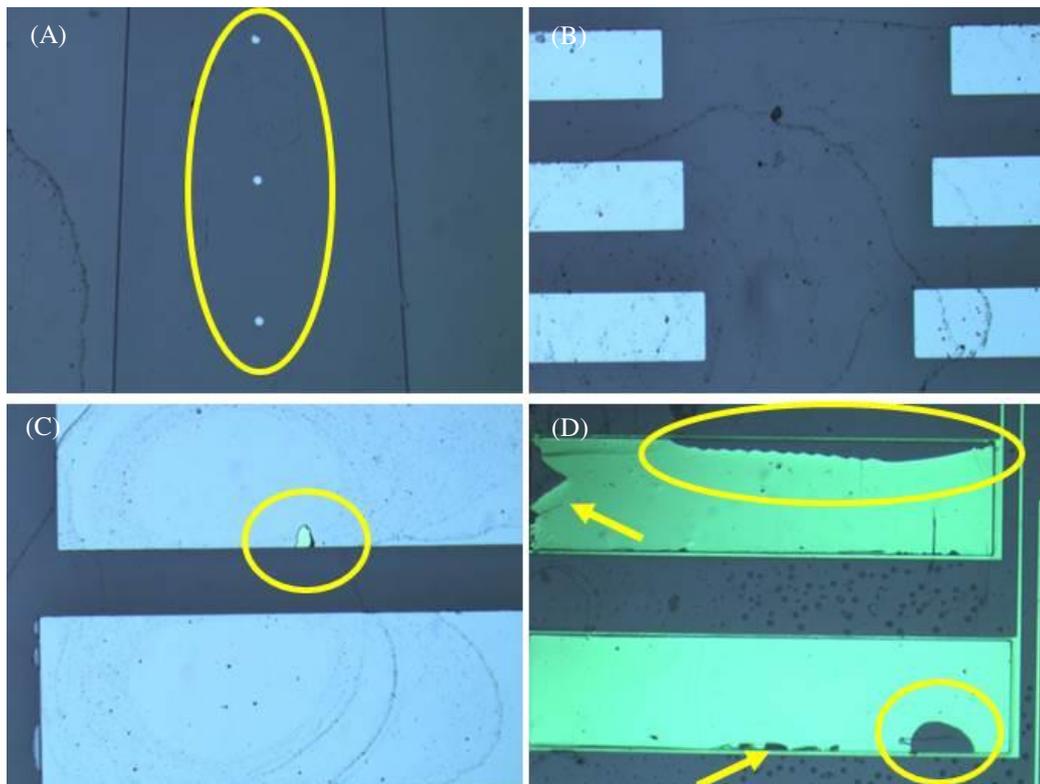


Figura 5.21: Imagens obtidas após liberação de sondas neurais de Cr/Au. (A) Cr dos microeletrodos retidos ao substrato; (B) Cr dos *pads* retidos ao substrato; (C) Cr e uma pequena parte de Au sob o substrato; (D) *Pads* danificados de uma sonda neural após a execução do processo.

Na Figura 5.22 (A) é possível observar o *pad* de uma sonda neural cuja grande parte do Cr permaneceu junto ao dispositivo. As regiões claras indicam os pontos sem Cr, tornando possível a observação do Au. A Figura 5.22 (B) apresenta uma sonda neural com *pad* de Au, indicando que o Cr ficou retido ao substrato, como apresentado na Figura 5.21 (B). Já as Figuras 5.22 (C) e (D) demonstram dispositivos com microeletrodos com e sem Cr, respectivamente. Para os dispositivos com microeletrodos de Cr é necessário uma etapa adicional de corrosão para exposição do Au. Entretanto, vale ressaltar que este processo não foi realizado.

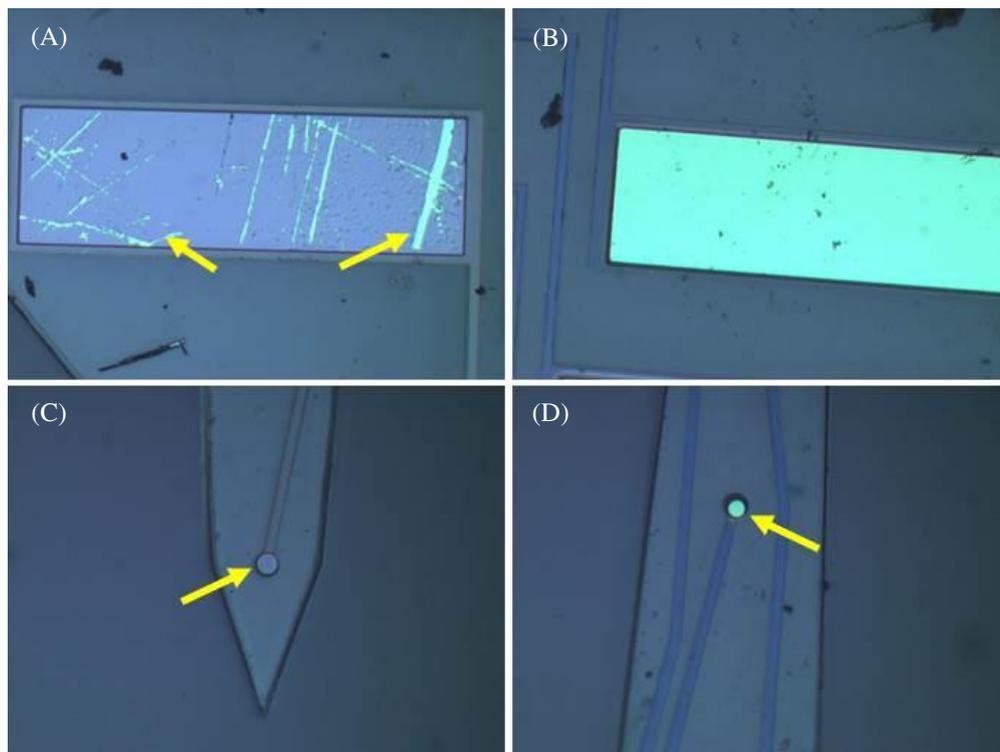


Figura 5.22: Sondas neurais de Cr/Au após o processo de liberação. (A) *Pad* de Cr. Nota-se que em pequenas regiões o Cr permaneceu no substrato, tornando possível observar o Au; (B) *Pad* de Au; (C) Microeletrodo de Cr; (D) Microeletrodo de Au.

As Figuras 5.23 (A) e (B) demonstram sondas neurais finalizadas de modelos **a.** e **d.** respectivamente. É possível observar as dimensões dos dispositivos, assim como a flexibilidade de uma sonda neural de SU-8. Já a Figura 5.24 dispõe os diferentes modelos de sondas neurais fabricados neste trabalho, além disso permite notar claramente as diferenças entre as geometrias produzidas.

Já nos dispositivos finalizados foi possível notar uma pequena curvatura não esperada proporcional ao tamanho das sondas. Os dispositivos de modelo **a.** apresentaram pouca curvatura, em contraste com os de modelo **d.**. O arqueamento foi definido na direção

do SU-8 mais espesso. Este estresse foi atribuído na literatura pelo gradiente de densidade de *cross-linking* estabelecido no dispositivo, devido aos diferentes processos de litografia e cozimento que as sondas neurais são submetidas durante o processo de fabricação [21, 57]. Apesar de inadequado, tal efeito não inviabiliza totalmente a utilização dos dispositivos, visto que a sonda possui considerável flexibilidade. Entretanto, apresenta grande dificuldade para inserção no tecido, diminuindo sua precisão e aumentando de forma substancial o risco de danificar o dispositivo. Estudos futuros devem identificar a causa exata do estresse e os parâmetros que podem ser alterados para reduzi-lo, visando à fabricação de sondas neurais planares.

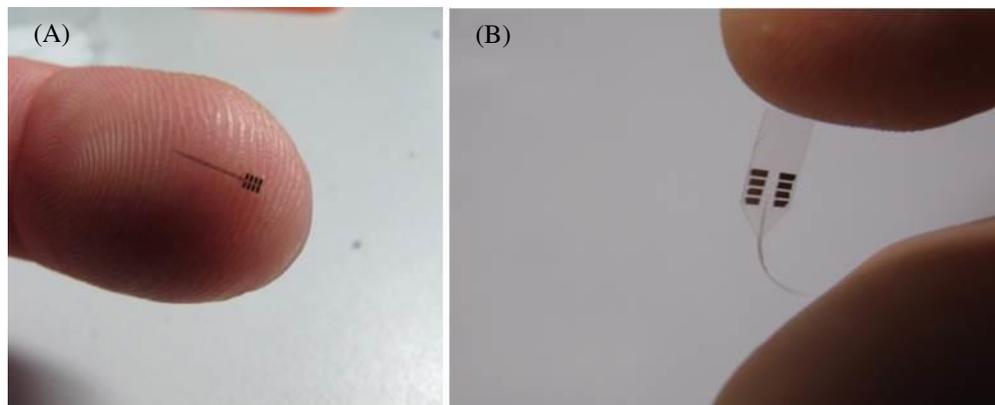


Figura 5.23: Sondas neurais produzidas. (A) Sonda modelo a.; (B) Sonda modelo d.. Flexibilidade das sondas neurais de SU-8.

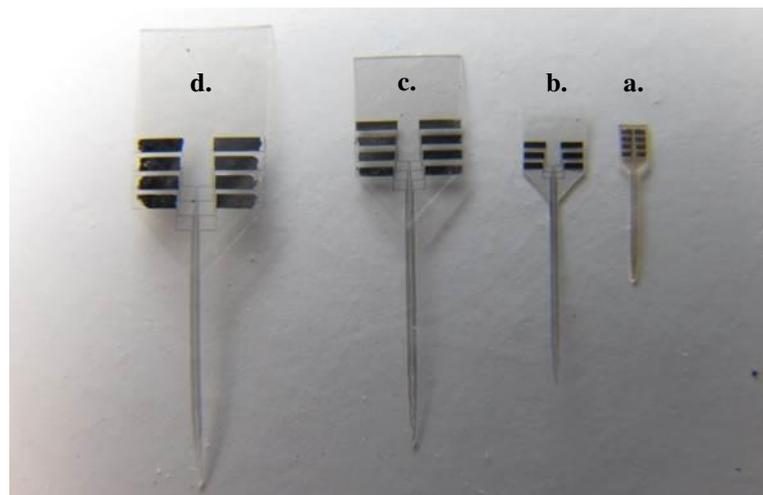


Figura 5.24: Diferentes modelos de sondas neurais produzidas.

Além dos procedimentos e materiais já descritos, durante a execução do trabalho foram realizados diversos testes e processos em paralelo. Em particular, houve a frequente necessidade de caracterização dos parâmetros envolvidos nos protocolos de exposição de SU-

8, e de inversão de imagem com o fotorresiste AZ-5214. A variabilidade observada pode ser atribuída a data de vencimento dos materiais disponíveis e inconstância intrínseca aos equipamentos utilizados (lâmpada, *hot-plate* e etc). Ademais, anteriormente a utilização de Al como camada sacrificial, os processos de fabricação foram realizados sob Si, óxido de Si, Ni e Cr, com intuito de identificar um material alternativo para produção das sondas neurais. As diferentes abordagens testadas acabaram sendo abandonadas para o desenvolvimento daqueles apresentados nesta seção. Por fim, a Tabela 4.2 sumariza os substratos e materiais utilizados para fabricação dos diferentes modelos de sondas neurais. Vale ressaltar que os modelos **b.**, **c.** e **d.** foram fabricados da mesma forma, visto que todos estavam presentes nas mesmas máscaras litográficas.

Tabela 5.2: Sumário dos materiais utilizados para os diferentes modelos de sondas neurais

Modelos	Substrato	Metal
a.	Si/Al; Vidro/Al	TiN; Ti/Au
b.	Vidro	Ti; Ti/Au; Cr/Au
c.	Vidro	Ti; Ti/Au; Cr/Au
d.	Vidro	Ti; Ti/Au; Cr/Au

5.3. Empacotamento

Para o empacotamento das sondas neurais inicialmente foram projetados e fabricados diferentes versões de placas de circuitos impressos. A Figura 5.25 ilustra parte da evolução do desenvolvimento dos PCB's, já a Figura 5.26 apresenta os protótipos desenvolvidos a partir das diferentes configurações produzidas. Os múltiplos modelos de PCB's foram sendo projetados conforme a identificação de novos requerimentos e especificações, aspirando um empacotamento que possibilitasse o acoplamento com equipamentos de caracterização, e de aquisição de dados comumente utilizados em experimentos de eletrofisiologia, além de permitir a fácil manipulação dos dispositivos.

É possível observar que a tendência geral do desenvolvimento das placas foram o aumento do distanciamento entre os *pads* de microsolda e os terminais do PCB, a adição dos furos e o estreitamento da área de fixação da sonda. Dado que a sonda neural se encontra na região de microsolda, o alongamento da placa permite o espaçamento e divisão clara entre o local em que estará sendo realizada a cirurgia e a área que fará contato com os equipamentos externos. Desta forma, o usuário terá melhor visualização da sonda e usufruirá de mais espaço para manipulação deste ou de outros dispositivos. Os furos foram efetuados com as distâncias

comumente utilizados em microeletrônica, tendo em vista a compatibilidade com outros mecanismos. Quanto ao estreitamento, nota-se que nos primeiros *designs* houve uma separação entre a região onde a sonda é fixa e os guias dos terminais, ocasionando uma perda de área proporcional ao tamanho da sonda. Visando o estreitamento do PCB e o aproveitamento da área, o design final possibilitou a fixação da sonda sob os guias, mantendo espaço para a realização da microssolda. Ademais, os PCB's foram desenvolvidos a partir de modelos comerciais produzido por empresas especializadas (NeuroNexus), e modelos encontrados na literatura [58]. É importante ressaltar que os designs das placas foram gerados por um técnico em eletrônica, a partir das especificações definidas durante a execução do projeto.

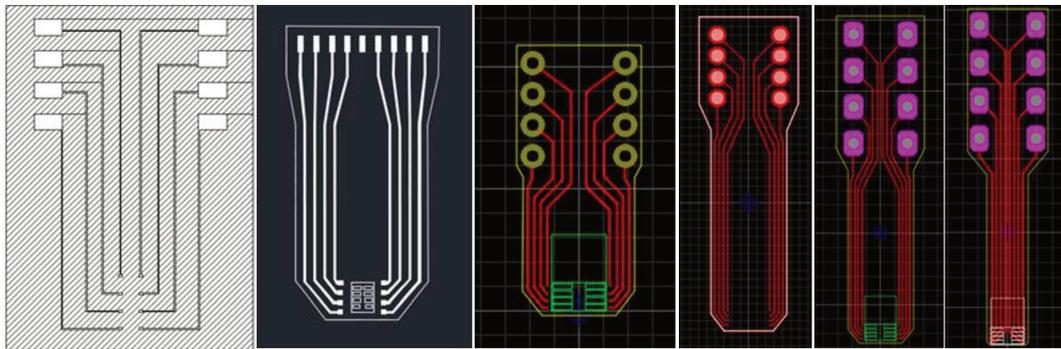


Figura 5.25: Evolução das diferentes versões de PCB's projetadas durante o desenvolvimento deste trabalho. Imagens cedidas por Carlos Bortoloto.

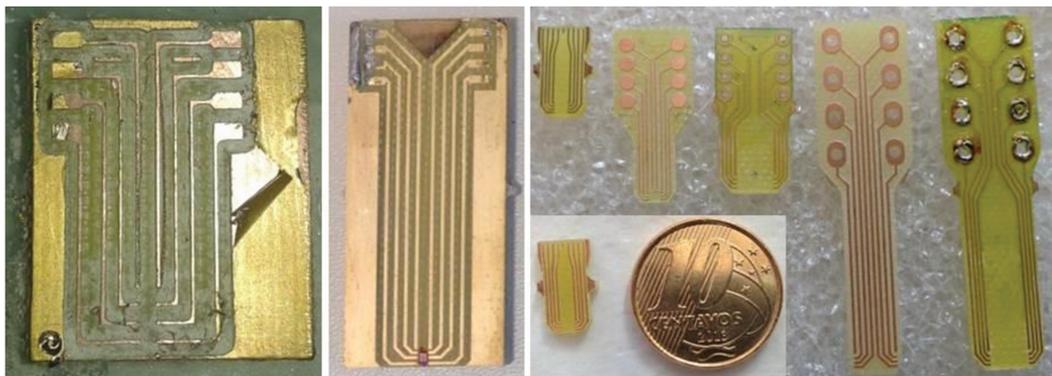


Figura 5.26: Protótipos de PCB's fabricados. Moeda utilizada para escala.

Uma vez estabelecido o design final, foi solicitado à uma empresa especializada (*Griffus PCB Ind Com Ltda*) a produção dos PCB's. Foram requisitadas placas de 0,8 mm, com 1 oz (do inglês *ounce*, unidade de massa que representa a espessura do filme) de Cu, furos metalizados e revestimento de Au. Além disso, foi solicitado a produção de placas para os quatro modelos de sondas neurais, as Figuras 5.27 (A) e (B) apresentam a última versão do PCB projetado e algumas das placas produzidas, respectivamente.

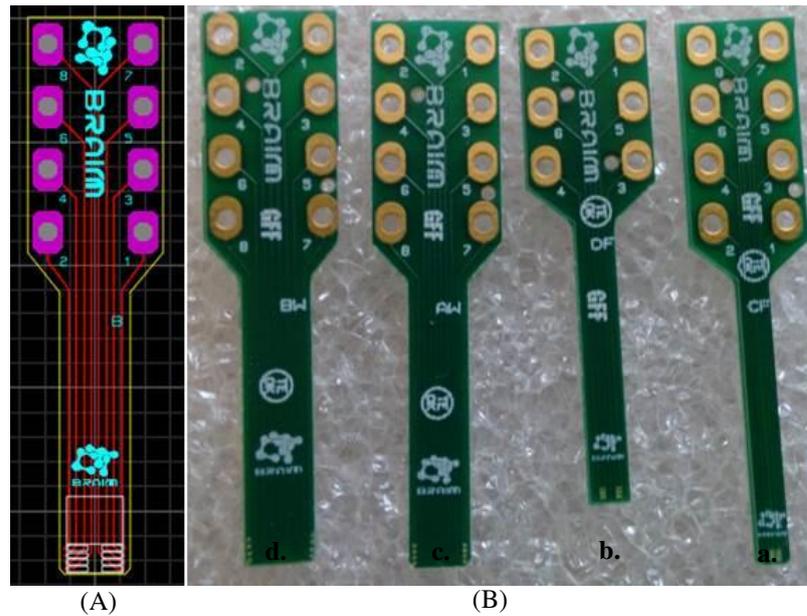


Figura 5.27: (A) Design da última versão de PCB projetado. Imagem cedida por Carlos Bortoloto; (B) PCB's fabricados para os quatro modelos de sondas neurais. Modelos **a.** e **b.** para *flip-chip*, e modelos **c.** e **d.** para *wire bonding*.

Após fabricação, as sondas neurais foram acopladas aos PCB's seguindo-se o procedimento descrito na metodologia. Vale ressaltar que os processos seguintes foram efetuados por técnicos de laboratório especializados. A Figura 5.28 apresenta uma sonda neural fixa ao PCB com uma resina epoxi. Subsequentemente, o dispositivo foi submetido ao *wire bonding*, que consiste em efetuar interconexões através da microsolda de um fio condutor entre os pontos desejados. Durante a execução da microsolda foi detectado grande dificuldade para que a solda sobre os *pads* fosse efetuada com sucesso. Foi sugerido que a espessura dos metais utilizados eram inferiores ao necessário, ou que o próprio SU-8 impossibilitava o processo. Entretanto, são necessários estudos para inferir suas possíveis causas e determinar como superá-las. Como alternativa foi aplicada uma pasta condutora de prata sob os *pads* e trilhas do PCB, de forma a possibilitar a realização da microsolda.

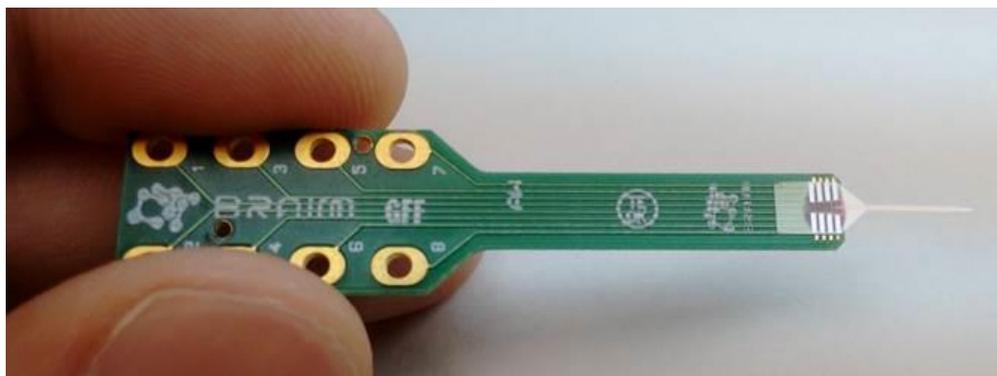


Figura 5.28: Sonda neural acoplada a um PCB.

A Figura 5.29 demonstra uma sonda neural de modelo **a**. acoplada e microsoldada a um PCB. Além disso, na Figura 5.29 **(B)** é possível notar claramente a pequena curvatura do dispositivo. A Figura 5.30, por sua vez, exibe diferentes imagens ampliadas da região onde foi realizada a microsolda. A Figura 5.30 **(A)** mostra a pasta condutora aplicada sob os *pads*, já a Figura 5.30 **(B)** apresenta a pasta aplicada sob as trilhas e *pads*, e a microsolda ligando ambos. A região avermelhada indica a resina epoxi utilizada para fixar o dispositivo sob o PCB. Além disso, é possível notar o espalhamento não uniforme da resina, possibilitando o contato acidental de um ou mais *pads*. O processo de deposição da pasta condutora foi realizado de forma manual, e constitui uma metodologia delicada.

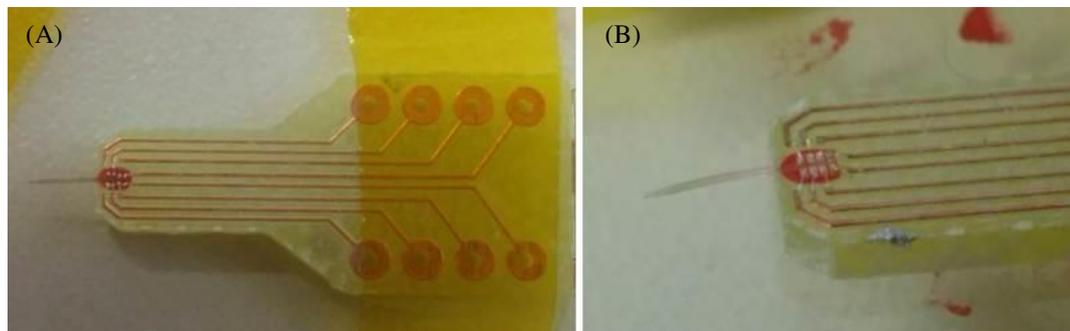


Figura 5.29: Sonda neural de modelo **a**. microsoldada ao PCB. **(A)** PCB com sonda acoplada; **(B)** Vista aproximada do dispositivo. É possível notar a curvatura indejada da sonda neural.

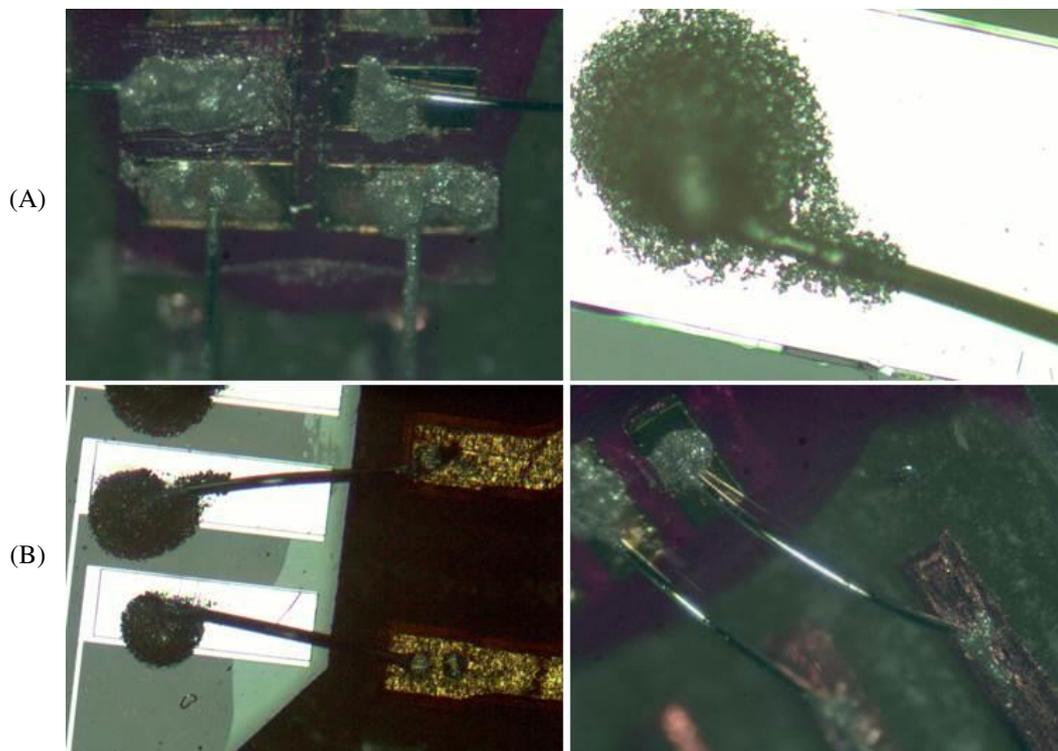


Figura 5.30: **(A)** Pasta condutora de prata aplicada sobre os *pads*; **(B)** Pasta condutora de prata aplicada sobre os *pads* e trilhas, e a microsolda efetuada entre ambos.

Para não manter a área microsoldada exposta, foi depositada uma resina epoxi isolante sob todo o local. A Figura 5.31 exibe varias placas após a realização deste processo. Subsequentemente, para finalização do empacotamento, foram soldados pinos aos furos com intuito de adicionar elementos capazes de estabelecer uma interface com circuitos externos. Inicialmente, os pinos eram soldados anteriormente ao processo de acoplamento da sonda ao PCB, entretanto, foi constatado que a presença dos pinos dificultavam o processo de microsolda. Por outro lado, o processo de solda posterior ao acoplamento da sonda se mostrou delicado, devido a fragilidade do dispositivo. Além disso, durante o desenvolvimento dos protótipos foram projetados PCB's visando a utilização de diferentes tipos de pinos, por fim o pino torneado DIP se mostrou o mais adequado para usos práticos. A Figura 5.32 exibe placas antes e após a solda dos pinos nos terminais. Já a Figura 5.33 mostra diferentes modelos de sondas neurais com o empacotamento finalizado.

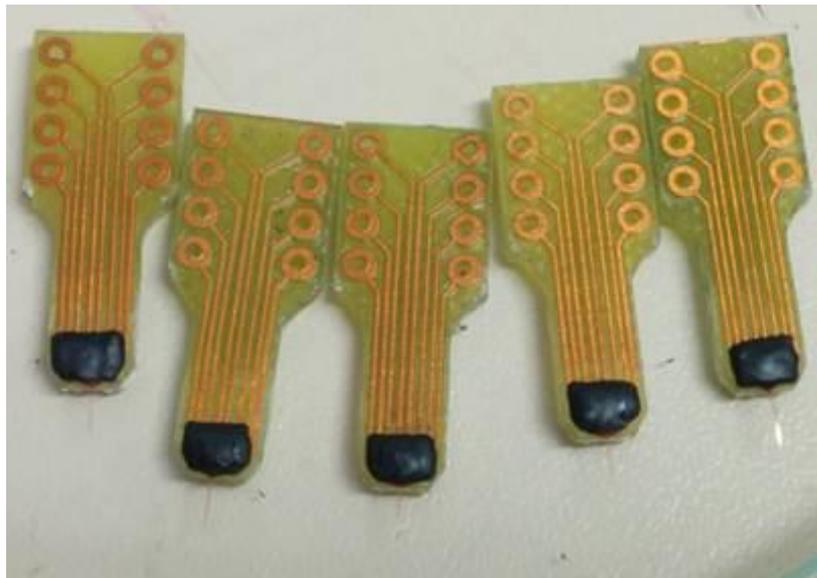


Figura 5.31: Sondas neurais de modelo **a**. microsoldadas aos PCB's. Imagem tirada após deposição da resina isolante.

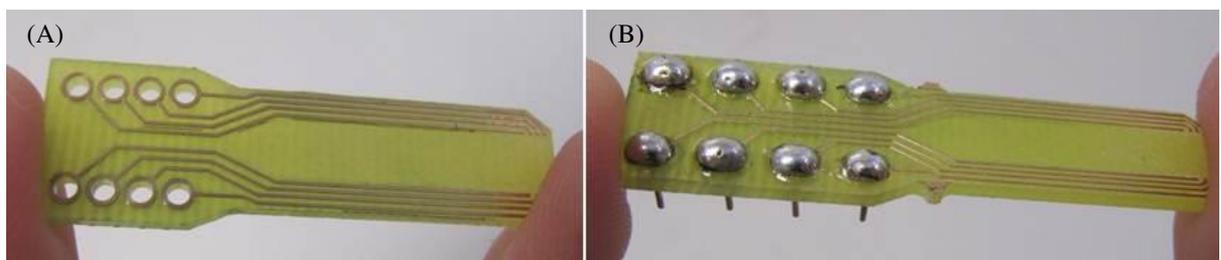


Figura 5.32: Placas de circuito impresso. (A) PCB antes a solda dos pinos; (B) PCB após solda dos pinos.

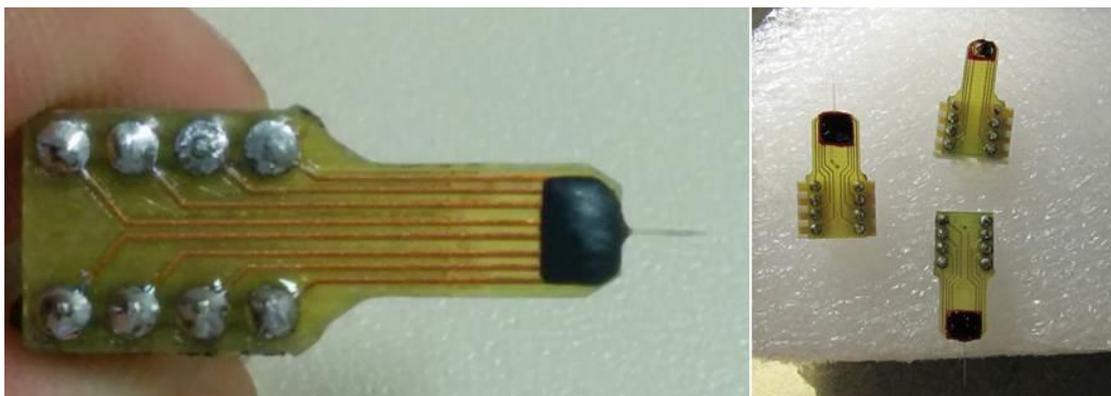


Figura 5.33: Diferentes modelos de sondas neurais empacotadas.

Como alternativa para o processo de *wire bonding* foi cogitado o método de *flip chip*, que consiste em depositar o material de solda sob os *pads* da sonda, virar o dispositivo e alinhar os *pads* com os conectores do PCB, e por fim aquecer o material para soldar a sonda na placa. Conforme esta metodologia, foram solicitados PCB's para todos os modelos de sondas neurais, realizando as modificações necessárias para implementação do *flip chip*. Na Figura 5.27 (B) os PCB's apresentados das sondas de modelos **a.** e **b.** foram produzidas para execução deste processo. Entretanto, esta tecnologia não foi aplicada neste trabalho. Estudos futuros devem implementar esta metodologia e estudar suas vantagens em relação ao *wire bonding*. Vale ressaltar que só foram solicitados PCB's visando o uso de *wire bonding* para as sondas de modelos **b.**, **c.** e **d.**, visto que todos os protótipos anteriores foram produzidos para as sondas de modelo **a.**

5.4. Caracterização

Após empacotamento os dispositivos puderam ser submetidos aos processos de caracterização eletroquímica. A montagem dos equipamentos utilizados está ilustrado na seção anterior (Figura 4.9). Foi feito uso da solução tampão fosfato-salino em temperatura ambiente, visando simular a concentração iônica de sistemas biológicos. Vale ressaltar que o PBS é comumente empregado para testes *in vitro* [59]. Inicialmente, foram acoplados fios aos pinos do dispositivo a fim de permitir o estabelecimento de uma conexão com o potenciostato, como ilustrado na Figura 5.34 (A). Em seguida a sonda foi inserida dentro da célula eletroquímica (Figura 5.34 (B)), mantendo somente a região de inserção imersa na solução.

A montagem da célula junto ao potenciostato se mostrou delicada, visto que a manipulação dos fios induzia o movimento do dispositivo, a Figura 5.35 exhibe este

acoplamento. Desta forma, houve a necessidade de adaptar o sistema para estabilização dos elementos, visto que os equipamentos utilizados não eram próprios para a medição de sondas neurais. Os cabos pretos ligaram-se ao contra-eletrodo (CE) e eletrodo de referência (RE), e o cabo vermelho, referido como eletrodo de trabalho (WE), estabeleceu a conexão com os microeletrodos. Cada um dos fios foram conectados ao cabo individualmente para realização das medidas eletroquímicas.

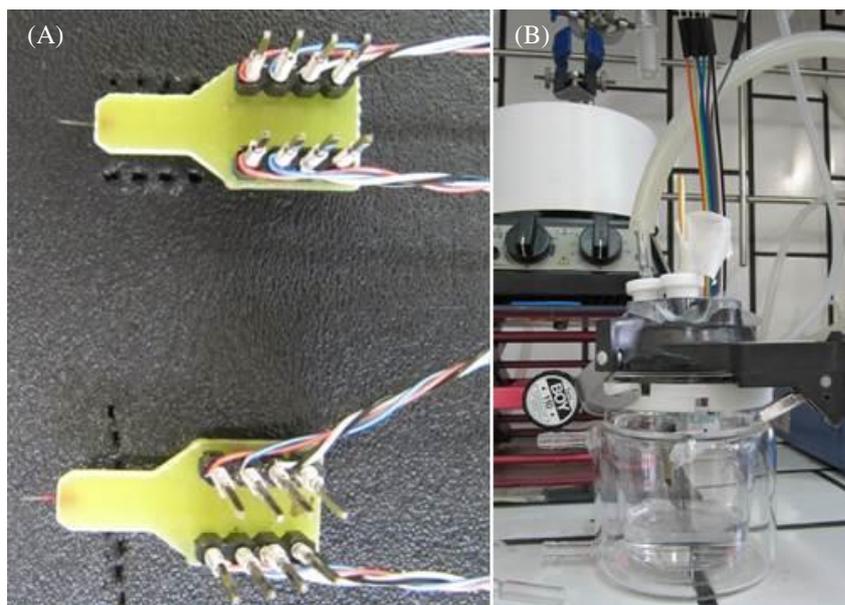


Figura 5.34: (A) Sondas empacotadas com fios acoplados; (B) Célula eletroquímica.



Figura 5.35: Célula eletroquímica acoplada ao potenciostato.

Além disso, foi observado que o sinal obtido era facilmente afetado pelo ambiente externo, causando ruídos e artefados durante as medições. Dada a natureza e escala do sinal, foi identificado a necessidade da implementação de uma gaiola de *Faraday* para realização das medidas. Foram produzidas diversas gaiolas para o isolamento do sinal, visando o melhor

desempenho possível. A blindagem de um computador também se mostrou efetiva. A Figura 5.36 ilustra a célula eletroquímica dentro de diferentes sistemas elaborados. Apesar de melhorar a qualidade do sinal obtido, a presença da gaiola dificultou substancialmente a manipulação dos elementos envolvidos na medida. Ademais, o *software* próprio do potenciostado possibilitava o aumento da precisão do sistema para registro de sinais muito baixos.



Figura 5.36: Evolução das gaiolas de *Faraday* implementadas durante o processo de caracterização.

As medidas eletroquímicas fornecem dados a respeito da viabilidade e eficácia dos dispositivos no que diz respeito a capacidade de registro e estímulo das sondas neurais. Por um lado, as curvas de VC permitem avaliar qualitativamente os processos eletroquímicos que sucedem na interface dos microeletrodos. Os tipos de reações (faradáico ou não-faradáico), por sua vez, indicam a viabilidade de uso do dispositivo para estímulo da atividade neural, dada a possibilidade de geração de elementos prejudiciais ao meio biológico. Por outro lado, as medidas de impedância elucidam a capacidade dos microeletrodos em registrar neurônios isolados ou grandes conjuntos neuronais.

As medidas realizadas foram efetuadas com intuito de verificar a viabilidade das sondas neurais fabricadas para aplicações *in vivo*, em particular para registro da atividade neural. A seguir serão apresentados os resultados obtidos durante o processo de caracterização. Vale ressaltar que um estudo mais detalhado dos processos eletroquímicos neste contexto foi realizado em um projeto paralelo a este [60]. A Figura 5.37 exhibe o voltograma obtido para os oito microeletrodos (**M 1 – M 8**) de uma sonda neural de modelo **a**. de Ti/Au, com uma taxa de varredura de 100 mV.s^{-1} em uma intervalo de $-1,4 \text{ V}$ até $0,8 \text{ V}$. Nota-se que todos os microeletrodos desta sonda obtiveram comportamentos similares, sugerindo pouca variação dos processos de fabricação em um mesmo dispositivo.

As Figuras 5.38 e 5.39 apresentam medidas de voltametria realizadas para apenas o microeletrodo denominado de **M 1**. Para obtenção do voltograma da Figura 5.38 (**A**)

foi utilizado uma taxa de varredura de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ em um intervalo entre $-1,5 \text{ V}$ até $1,0 \text{ V}$. Já para o voltograma da Figura 5.38 (B) também foi utilizado uma taxa de varredura de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$ porém em um intervalo entre $-0,8 \text{ V}$ até $0,0 \text{ V}$. De forma qualitativa, o formato da curva da Figura 5.38 (A) indica a ocorrência de processos faradânicos quase-reversíveis (correntes anódica e catódica) na interface eletrodo-eletrólito. A curva da Figura 5.38 (B), por sua vez, apresenta a inexistência de processos de oxirredução, sugerindo somente a ocorrência de processos do tipo não-faradânicos. Neste intervalo, portanto, não são geradas espécies reativas possivelmente nocivas ao sistema biológico. Desta forma, foi identificada uma janela de potencial para o qual o dispositivo pode ser utilizada para estímulo da atividade elétrica neural de forma segura.

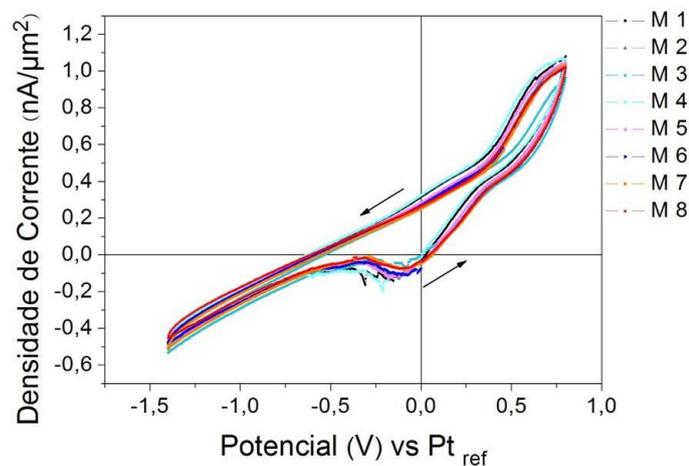


Figura 5.37: Potencial (V) X Densidade de Corrente ($\text{nA}/\mu\text{m}^2$). Voltograma de uma sonda neural de modelo **a**. de Ti/Au, com taxa de varredura de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, no intervalo entre $-1,4 - 0,8 \text{ V}$. Os microeletrodos foram nomeados de **M 1** a **M 8**.

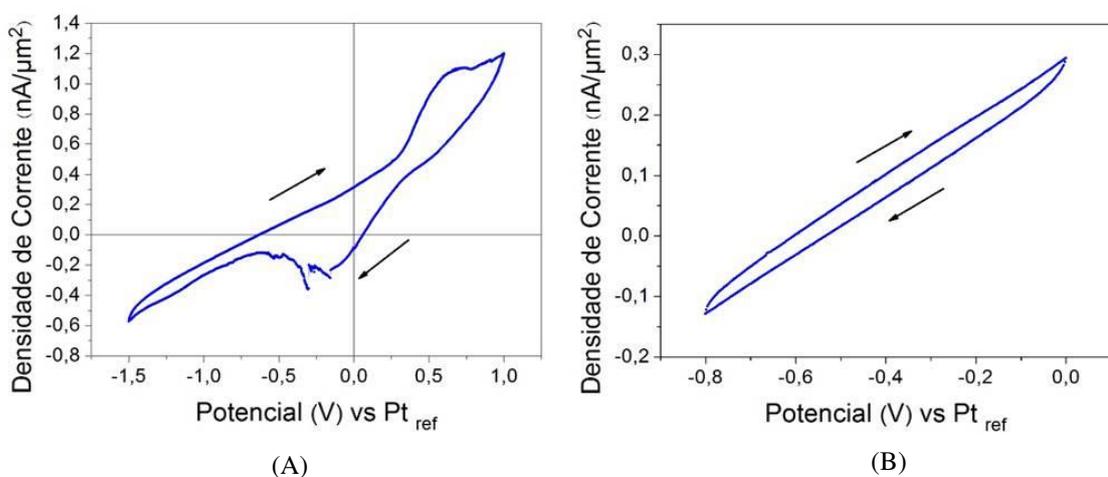


Figura 5.38: Potencial (V) X Densidade de Corrente ($\text{nA}/\mu\text{m}^2$). Voltagramas para o microeletrodo **M 1** de uma sonda neural de modelo **a**. de Ti/Au. (A) Medida com taxa de varredura de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, no intervalo entre $-1,5 - 1,0 \text{ V}$; (B) Medida com taxa de varredura de $100 \text{ mV}\cdot\text{s}^{-1}$, no intervalo entre $-0,8 - 0,0 \text{ V}$

A Figura 5.39 exibe o voltograma obtido para o microeletrodo **M 1** fazendo o uso de diferentes taxas de varreduras, no intervalo de -1,45 V até 0,6 V. É possível notar que a o aumento da taxa de varredura induz o crescimento das densidades de correntes anódica e catódica. Por fim, a Figura 5.40 demonstra a medida de espectroscopia de impedância para uma sonda neural de Ti/Au. Na curva obtida estão apresentados as médias dos módulos das impedâncias de todos os microeletrodos de um dispositivo para cada valor de frequência. De acordo com a literatura eletrodos de registro são geralmente caracterizados pela sua impedância a 1 kHz [59], que corresponde a frequência onde tipicamente se encontra o potencial de ação. Para $f = 1$ kHz foi obtido uma impedância média de $(26,6 \pm 5,5) \text{ k}\Omega$, que está abaixo de alguns valores reportados na literatura [30]. O valor obtido sugere a viabilidade do dispositivo para registro da atividade elétrica de neurônios isolados.

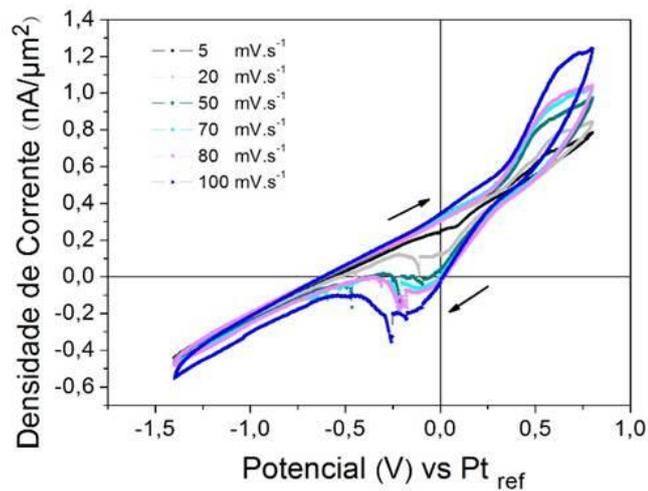


Figura 5.39: Potencial (V) X Densidade de Corrente ($\text{nA}/\mu\text{m}^2$). Voltograma de uma sonda neural de modelo **a**. de Ti/Au, com diferentes taxas de varredura, no intervalo entre -1,45 – 0,6 V para o microeletrodo **M 1**.

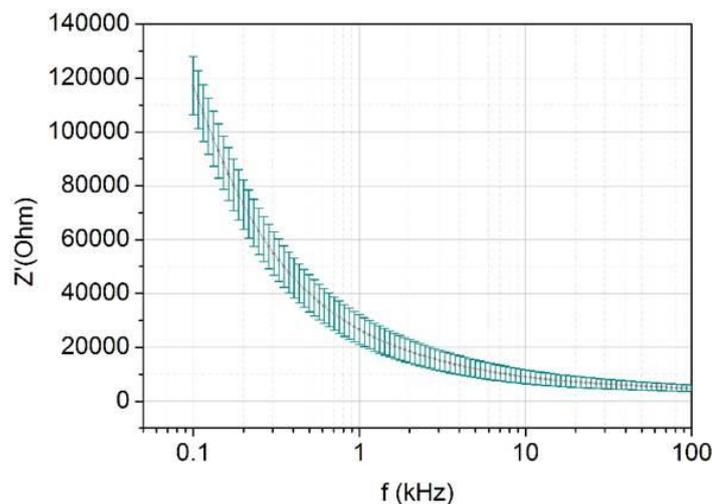


Figura 5.40: Impedância X Frequência.

A partir do número de sondas neurais fabricadas apenas uma parte reduzida foi empacotada, dado a quantidade limitada de PCB's e a dificuldade relacionada ao processo de microsolda. Desta forma apenas alguns dispositivos foram submetidos ao processo de caracterização. Muitos dos microeletrodos observados estavam danificados e os voltagramas destas sondas foram descartados. Ainda que os dados de caracterização eletroquímica apresentados não possam ser extrapolados para todos os dispositivos fabricados, vale notar que a existência de dispositivos eletroquimicamente funcionais sugere a eficácia do processo adotado.

É importante ressaltar que futuramente estudos mais detalhados devem ser realizados com um maior número de dispositivos. Desta forma, será possível verificar estatisticamente a reprodutibilidade do desempenho dos microeletrodos fabricados por esta metodologia. Para isso, espera-se o desenvolvimento de uma plataforma própria para realização do processo de caracterização de sondas neurais, visto que a montagem experimental utilizada se mostrou imprópria para medidas em série de vários dispositivos. A preparação das caracterizações exigiu adaptações dos materiais disponíveis e demandou bastante tempo para inicialização efetiva do procedimento.

5.5. Aplicações práticas

Visando avaliar as sondas neurais fabricadas sob os aspectos práticos, foram efetuados testes de eletrofisiologia com modelos animais. É importante ressaltar que todos os experimentos apresentados a seguir foram realizados por neurocientistas experientes com o acompanhamento do aluno. Preliminarmente, foi realizado um ensaio mecânico com uma sonda neural em um cadáver de rato em um sistema estereotáxico, com intuito de verificar a capacidade do dispositivo em penetrar o tecido neural. Este experimento foi realizado junto ao CEMIB (Unicamp). O rompimento ou não do dispositivo indicaria se a espessura utilizada ($\approx 50 \mu\text{m}$) era ideal para aplicações *in vivo*. A Figura 5.41 retrata o experimento efetuado. Nota-se que durante a realização deste teste os PCB's ainda não haviam sido produzidos, entretanto, foi utilizada uma resina auto-polimerizante para o acoplamento do dispositivo. Através deste teste, foi inferido que a sonda era resistente o suficiente para penetrar o córtex do animal, mas não o bastante para penetrar a dura mater. Desta forma, não houve a necessidade de implementações nas espessuras das sondas neurais produzidas posteriormente.

Os testes seguintes foram realizados no Instituto do Cérebro (UFRN) com intuito de registrar a atividade neural *in vivo* com as sondas neurais de SU-8. Para este fim, uma

sonda neural de Ti/Au e uma de Ti com Au eletrodepositado foram aplicadas em experimentos similares de optogenética em camundongo. Anteriormente aos testes, foi verificado que a impedância da sonda neural de Ti era imprópria para o registro da atividade elétrica de neurônios isolados (acima de $4\text{ M}\Omega$). Alternativamente, foi eletrodepositado Au sob os microeletrodos de Ti até que o valor de impedância alcançasse um valor apropriado. Para a realização do estímulo óptico, foram utilizados uma fibra óptica, um laser de 488 nm, com intensidade de $5\text{-}10\text{ mW/mm}^2$. O paradigma aplicado consistiu de 5 blocos de 200 pulsos com $\approx 5\text{ s}$ de pausa, e cada bloco foi constituído de 10 ms com o laser ligado e mais 90 ms desligado. A Figura 5.42 retrata o experimento realizado com a sonda neural de modelo **a.** de Ti/Au. A fim de comparar o desempenho dos dispositivos fabricados neste projeto com sondas comumente empregadas pelos neurocientistas, também foram utilizadas sondas neurais comerciais de Si (NeuroNexus, modelo A1x16-5mm-50-177-A16). Ambos os dispositivos foram inseridos em regiões próximas. A Figura 5.43 exibe a utilização da sonda neural comercial.



Figura 5.41: Teste mecânico de uma sonda neural (destacado) em cadáver de rato.

Tanto a sonda neural de Ti/Au quanto a de Ti com Au eletrodepositado foram capazes de registrar a atividade elétrica induzida pelo estímulo óptico durante testes em experimentos independentes. O uso da eletrodeposição se mostrou como uma ótima opção para controle e modificação das impedâncias, com possibilidade de tornar dispositivos inicialmente impróprios em adequados para uso.

É importante destacar que os dados apresentados a seguir foram coletados e processados pelo laboratório de Neurodinâmica do Instituto do Cérebro (UFRN), orientado pelo Prof. Richardson Leão.

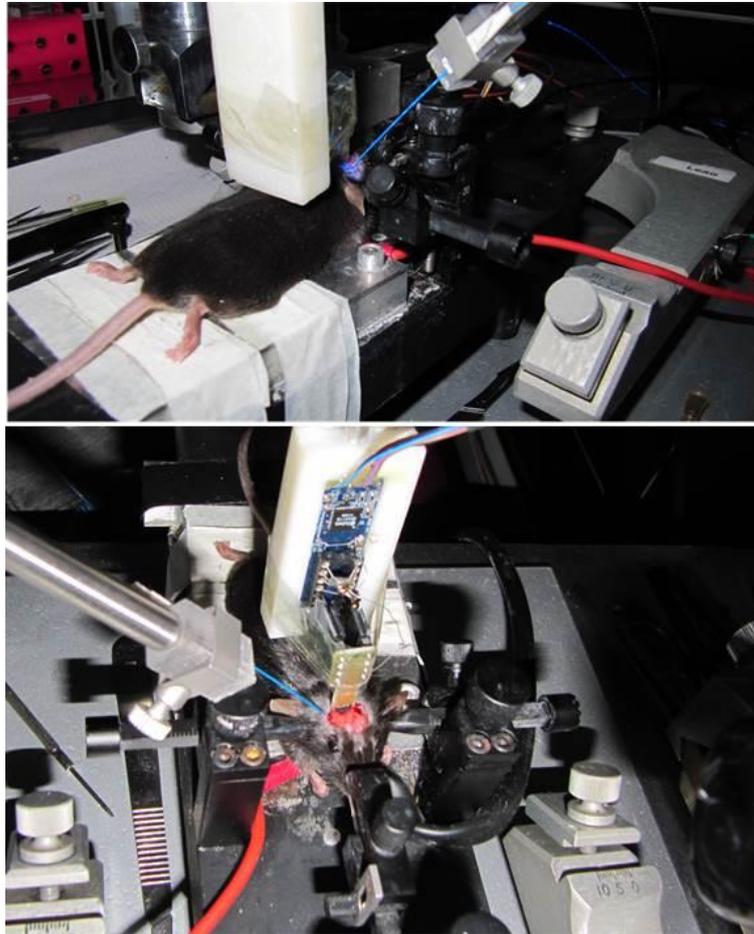


Figura 5.42: Experimento de optogenética em camundongo com sonda neural de modelo a. e Ti/Au.



Figura 5.43: Experimento de optogenética em camundongo com sonda neural comercial (NeuroNexus).

A Figura 5.44 exibe o corte histológico do cérebro do camundongo utilizado com o registro da sonda neural de Ti. Primeiramente, foi registrado o sinal com a sonda de Ti, posteriormente com a sonda comercial. Ambas foram inseridas no mesmo setor, próximas ao núcleo coclear ventral. A região destacada (A) indica o rastro causado pela fibra óptica; já a região destacada (B) salienta o rastro provocado pela inserção da sonda neural. É possível notar que o dano causado pela fibra é muito maior comparado ao causado pela sonda neural, além disso verifica-se a proximidade de ambos.

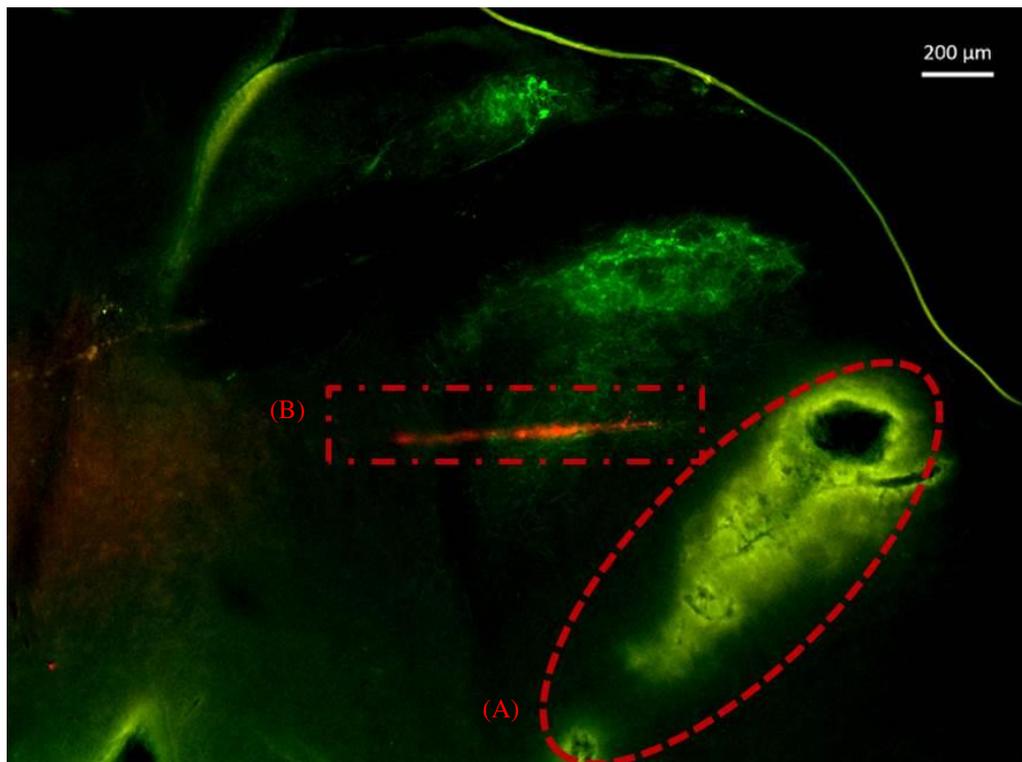


Figura 5.44: Corte histológico do cérebro de camundongo utilizado para o experimento de optogenética. (A) Rastro da fibra óptica; (B) Rastro da sonda neural. Imagem cedida pelo Prof. Richardson Leão e Thawann Malfatti.

A Figura 5.45 apresenta o *spike sorting* realizado com o sinal obtido pela sonda neural de SU-8. O algoritmo separa os *spikes* detectados em diferentes *clusters* que referem-se a atividade elétrica de populações neurais distintas. Para isso é avaliado e comparado o formato dos *spikes* registrados. É possível observar a separação em três diferentes *clusters*, indicando a detecção de três diferentes populações neurais. Em suma, a Figura 5.45 verifica a viabilidade do uso das sondas neurais de SU-8 fabricadas neste projeto para registro da atividade neural.

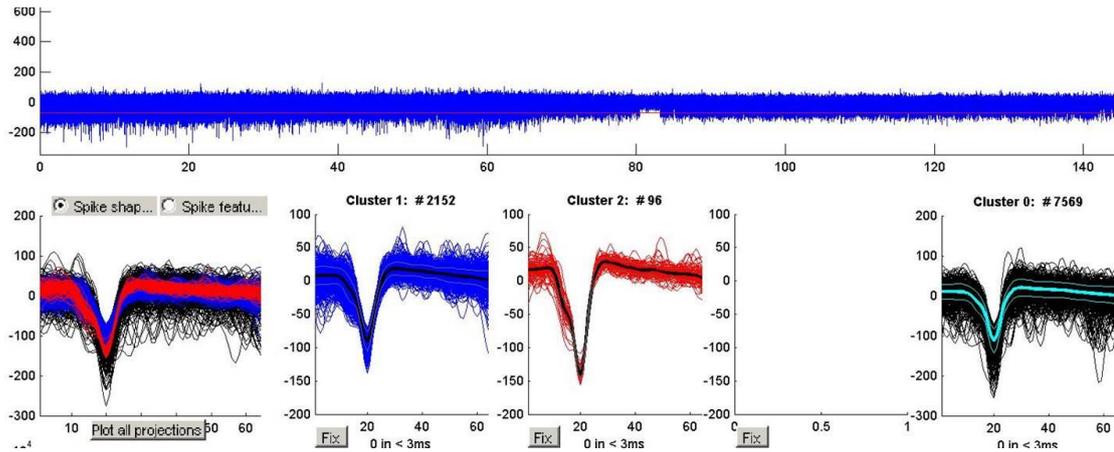


Figura 5.45: *Spike sorting* do sinal obtido com a sonda neural de SU-8. Imagem cedida pelo Prof. Richardson Leão.

Já as Figura 5.46 e 5.47 apresentam os sinais não tratados obtidos pelos diferentes canais das sondas neurais utilizadas durante o teste realizado. Na Figura 5.45 é possível observar o sinal registrado pela sonda comercial de Si (NeuroNexus). A região destacada (A) representa os canais possivelmente danificados; a região destacada (B) indica a área aproximada em que o sinal foi observado mais de perto; já as regiões destacadas (C) elucidam uma pequena proeminência de 10 Hz no sinal. Este efeito, denominado de artefato óptico, é usualmente atribuído à interação da luz com a sonda neural. Este tipo de artefato é comumente encontrado em experimentos de optogenética com sondas neurais. Na Figura 5.47 pode-se observar o sinal coletado pela sonda neural de SU-8. A região destacada (A) indica a área aproximada em que o sinal foi observado com mais detalhe. Pela comparação qualitativa entre os sinais obtidos pelas diferentes sondas, nota-se que a sonda neural de SU-8 não apresenta de forma óbvia o artefato óptico.

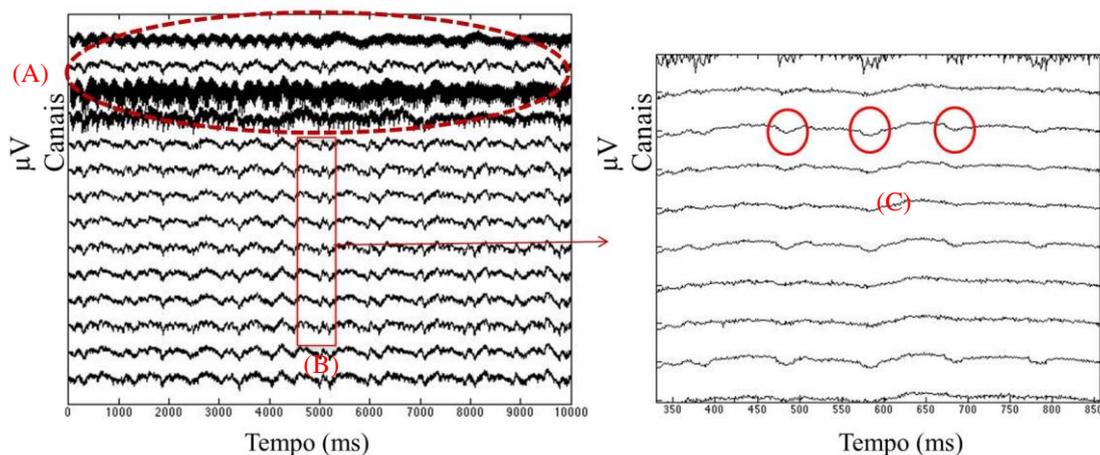


Figura 5.46: Sinal obtido com a sonda neural comercial de Si (NeuroNexus). (A) Canais danificados; (B) Área observada em outra escala; (C) Artefato óptico. Imagem cedida pelo Prof. Richardson Leão.

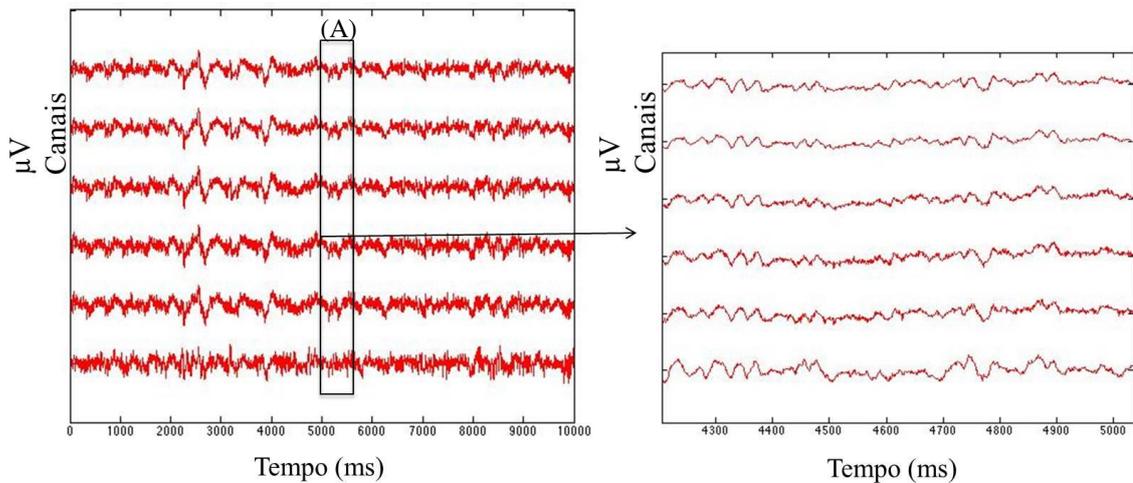


Figura 5.47: Sinal obtido com a sonda neural de SU-8. (A) Área observada em outra escala. Imagem cedida pelo Prof. Richardson Leão

Por fim, a Figura 5.48 exibe o espectro de potência do sinal registrado. A curva preta corresponde à sonda neural comercial, já a vermelha é relativo a sonda neural de SU-8. É possível notar que, de fato, a 10 Hz o artefato óptico no dispositivo de SU-8 é menor em relação ao comercial. Vale ressaltar que não é esperado nenhum tipo de atividade neural nesta frequência e que, além disso, o pico correspondente a ≈ 1 Hz é atribuído a ruído.

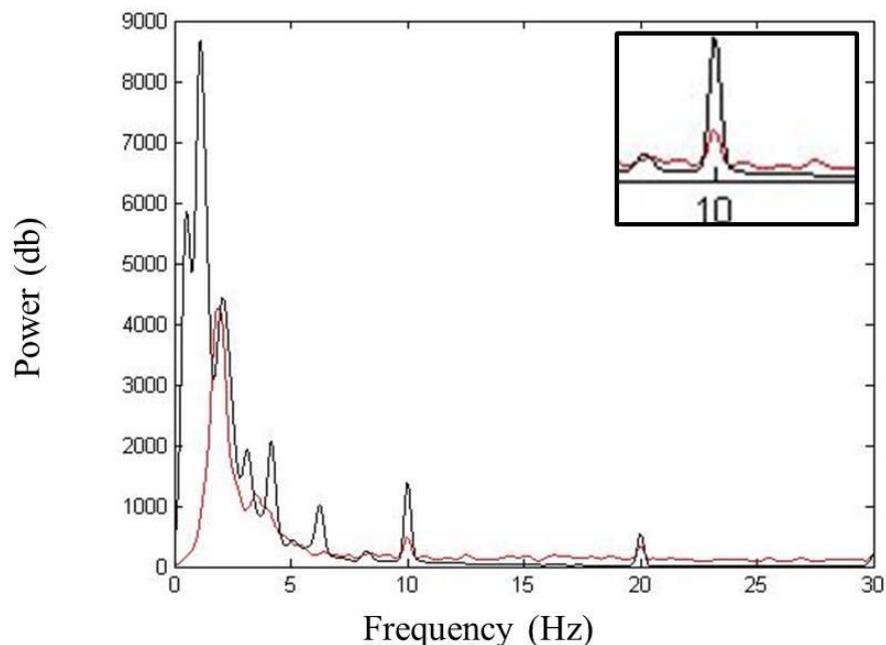


Figura 5.48: Espectro de potência dos sinais obtidos com as sondas neurais de SU-8 e comercial de Si (NeuroNexus). Imagem cedida pelo Prof. Richardson Leão

Anteriormente aos testes apresentados, também foram realizados ensaios *in vivo* sem sucesso de registro. Altas impedâncias, presença de ruídos e até mesmo sondas danificadas ou com o empacotamento comprometido podem ser motivos para os fracassos das medidas. Entretanto, todas os testes realizados foram valiosos para a avaliação do dispositivo, no que diz respeito ao empacotamento, manipulação e acoplamento com equipamentos externos. Desta forma, novas especificações e requerimentos foram suscitados para a posterioridade. Os pinos empregados no empacotamento da sonda neural utilizada, por exemplo, não eram compatíveis ao sistema de registro disponível, desta forma houve a necessidade de adaptar o dispositivo com o acoplamento de diferentes conectores. Desta forma, os pinos empregados nos PCB's fabricados posteriormente foram escolhidos visando a compatibilidade com equipamentos geralmente utilizados em eletrofisiologia. A Figura 5.49 exibe a adaptação realizada.

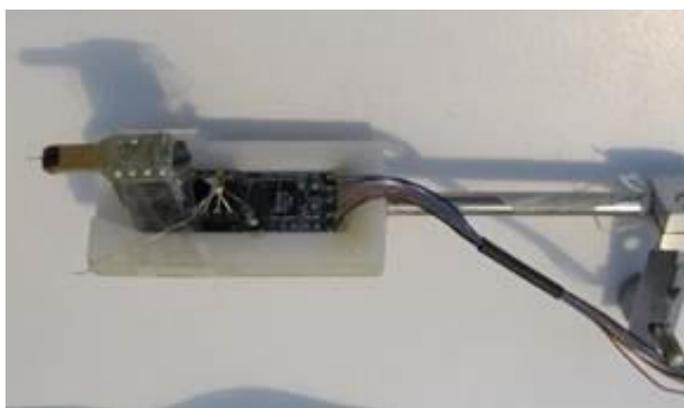


Figura 5.49: Adaptação realizada para acoplamento das sondas neurais no sistema de registro.

Em suma, foi constatada a viabilidade dos protótipos desenvolvidos para experimentos *in vivo*. A espessura utilizada se mostrou adequada para inserção do córtex. Além disso, foi verificado a capacidade de registro de sondas neurais de SU-8 fabricadas neste trabalho. A sonda neural de Au/Ti foi capaz de registro, entretanto a de Ti possuiu uma impedância muito elevada para registros de neurônios individuais. No entendo, foi observado que a eletrodeposição de Au sobre Ti modificou sua impedância até torná-la viável para o experimento. Um estudo mais detalhado do processo de eletrodeposição neste contexto foi realizado em um projeto paralelo a este [60]. Além disso, os testes realizados com optogenética sugeriram que a sonda neural de SU-8 possuiu menos influência do artefato óptico em relação a sonda comercial de Si, tornando-a mais adequada para estes tipos de experimentos.

Entretanto, ainda que parte dos testes *in vivo* terem sido realizados com sucesso, é importante ressaltar que novos experimentos e com diferentes sondas neurais devem ser realizados para verificação estatística da reprodutibilidade dos dados obtidos. Além disso, devem ser comparados os desempenhos de dispositivos fabricados pelas diferentes maneiras e com diferentes metais depositados, visando a otimização do desempenho dos dispositivos tanto para registro quanto para estímulo da atividade neural. O mesmo vale para a verificação da possível vantagem em se utilizar sondas poliméricas de SU-8 sob sondas de Si para experimentos com optogenética.

6. Conclusão

Este trabalho visou o estabelecimento da tecnologia de projeto e microfabricação de sondas neurais de SU-8. A metodologia de design desenvolvida para produção automática de sondas neurais se mostrou eficiente para geração de diferentes geometrias. O *script* desenvolvido permite modificações rápidas no design de acordo com novos requerimentos e especificações, assim como possibilita a implementação de customizações a fim de atender necessidades experimentais específicas. Além disso, auxilia o processo de projeto dos *layouts* das máscaras litográficas utilizadas para a metodologia de fabricação proposta. Desta forma, quatro diferentes modelos (**a.**, **b.**, **c.** e **d.**) de sondas neurais foram prontamente projetadas mediante alteração de apenas alguns parâmetros. Em contraste com o modelo **a.**, as implementações introduzidas nos designs de modelos **b.**, **c.** e **d.** se mostraram eficientes para a manipulação e controle dos dispositivos. Em particular, a área introduzida simplificou a realização do empacotamento.

O processo de microfabricação adotado permitiu o desenvolvimento de dispositivos pequenos (5 – 15 mm) e funcionais com sucesso. Desta forma, sondas neurais rígidas e flexíveis com diferentes metais depositados (Ti, TiN, Ti/Au, Cr/Au) foram fabricadas e empacotadas. O procedimento se mostrou rápido e relativamente simples, entretanto, foram encontradas diversas dificuldades. Cada etapa do processo foi susceptível a múltiplos erros que poderiam afetar tanto a integridade física do dispositivo quanto sua funcionalidade de forma substancial. A utilização do vidro como substrato de trabalho ofereceu uma alternativa simples e barata para realização dos processos, visto que as sondas neurais foram fabricadas acima do substrato (*surface micromachining*) e independeram da natureza de seu material. Ademais, o processo de liberação das sondas foi identificado como particularmente delicado dado seu grande potencial em danificar os dispositivos. A presença ou não da camada sacrificial de Al determinou quais os processos seriam realizados para liberação das sondas. Em sua presença os dispositivos foram extraídos mediante corrosão úmida (KOH). Este processo foi utilizado para obtenção de sondas de modelo **a.** de TiN e Ti/Au. Já na ausência da camada sacrificial, os dispositivos foram liberados mecanicamente através do uso de uma pasta fosqueante, água corrente e diferentes temperaturas, de forma cíclica. Este processo foi executado em substratos de vidro para obtenção de sondas neurais de modelos **b.**, **c.** e **d.**, com Ti, Ti/Au e Cr/Au depositados. O primeiro se mostrou um

processo relativamente mais simples, todavia necessitou a adição de uma etapa de fabricação (deposição de Al) e o uso do KOH, tornando a execução da metodologia mais cara. Dado que é interessante minimizar o número de químicos utilizados durante a fabricação de dispositivos implantáveis, a corrosão eletroquímica surgiu como possível opção para corrosão da camada de Al. Já o último se mostrou pouco reproduzível, visto que foi realizado de forma visual e, portanto, sem controle dos parâmetros envolvidos. No entanto, não ficou clara a inviabilidade total do processo, já que diferentes dispositivos foram fabricados. Por outro lado não foram avaliadas sondas funcionais obtidas com esta metodologia.

Quanto ao empacotamento, foram produzidos diferentes protótipos de PCB's durante a execução do projeto. A última versão foi produzida por uma empresa especializada e incorporou todos os requerimentos identificados anteriormente. Já o processo de acoplamento das sondas neurais nos PCB's não se mostrou totalmente adequado. Por motivos ainda não explorados o procedimento de *wire bonding* não foi efetuado com sucesso diretamente nos *pads* dos dispositivos. Alternativamente, foi utilizado uma resina condutora de prata para realizar a conexão. Desta forma, foram empacotadas com sucesso os diferentes modelos de sondas neurais.

Além disso, o procedimento de caracterização se mostrou necessário para examinar a funcionalidade dos microeletrodos dos dispositivos. A partir da avaliação eletroquímica das sondas neurais de modelo **a.** de Ti/Au por voltametria cíclica e espectroscopia de impedância, foram identificados tanto um intervalo de potencial para o qual não são geradas espécies reativas, quanto o valor da impedância dos microeletrodos para várias frequências. Este intervalo garante a ocorrência somente de processos do tipo não-faradáicos. Para $f = 1$ kHz foi obtido uma impedância média de $(26,6 \pm 5,5)$ k Ω . Este valor sugere a viabilidade do dispositivo para registro da atividade elétrica de neurônios isolados.

Os testes práticos realizados foram fundamentais para validação das sondas neurais de SU-8 fabricadas. Inicialmente foi constatado que a espessura de SU-8 utilizada era o suficiente para inserção no córtex. Para os testes *in vivo* efetuados no Instituto do Cérebro (UFRN), foi verificado a alta impedância da sonda de Ti, impossibilitando o registro de neurônios isolados. Entretanto, o dispositivo foi submetido ao processo de eletrodeposição de Au até que sua impedância fosse adequada. Desta forma, tanto a sonda de Ti com Au eletrodepositado quanto uma de Ti/Au foram testadas com sucesso para o registro da atividade neural de camundongos em experimentos de optogenética. Vale ressaltar que também foi utilizada para fins comparativos uma sonda neural comercial de Si (NeuroNexus).

Além disso, foi observado que o artefato óptico teve um efeito reduzido na sonda de SU-8, em relação ao dispositivo comercial. Isso sugere que possivelmente as sondas neurais de SU-8 poderiam ser uma alternativa viável para experimentos de optogenética.

Por fim, o polímero SU-8 se mostrou um material adequado para a fabricação de sondas neurais funcionais, confirmando sua viabilidade já retratada na literatura. Dispositivos de diferentes dimensões foram projetados e fabricados com sucesso seguindo a metodologia descrita. Ademais, testes *in vivo* verificaram sua viabilidade para estudos em modelos animais. Desta forma, foi estabelecido a competência necessária para a produção de sondas neurais de SU-8.

6.1. Perspectivas

Para a continuidade do projeto são necessários tanto o estudo e aprimoramento de algumas etapas, quanto a investigação de materiais e processos alternativos. A seguir estão listados os pontos considerados mais importantes:

- I. **Controle dos protocolos:** Foi constatado que alguns parâmetros associados ao processo de litografia variavam com o tempo. Espera-se maior controle desta variabilidade, com intuito de aumentar a reprodutibilidade e eficiência dos dispositivos fabricados;
- II. **Reduzir estresse residual:** É preciso o entendimento detalhado dos parâmetros e processos envolvidos na formação da curvatura observada no dispositivo final. Desta forma, alterações de protocolos poderão ser implementadas a fim de eliminar este efeito e maximizar a planaridade das sondas neurais;
- III. **Camada sacrificial:** Estudo de possíveis alternativas de materiais como camada sacrificial;
- IV. **Liberação dos dispositivos com camada sacrificial:** É necessário maximizar a eficiência do processo de liberação das sondas neurais. Para isso, é importante o estudo de processos alternativos de corrosão da camada sacrificial, tal como a corrosão eletroquímica;

- V. **Liberação dos dispositivos sem camada sacrificial:** A utilização do substrato de vidro sem camada sacrificial pode se mostrar viável no futuro. Entretanto é necessário o estabelecimento de um protocolo definido e reproduzível para extração dos dispositivos, assim como o entendimento dos parâmetros envolvidos no processo, tais como a temperatura, força necessária, aderência do SU-8 e dos diferentes metais e etc;
- VI. **Materiais para os microeletrodos:** É necessário o estudo da viabilidade de diferentes materiais condutores para formação dos microeletrodos. Os materiais utilizados deverão ser avaliados quanto sua biocompatibilidade e propriedades eletroquímicas, a fim de verificar sua aplicabilidade tanto para registro quanto para estímulo da atividade neural;
- VII. **Empacotamento:** É esperado o estudo e execução do processo de *flip chip* como alternativa ao *wire bonding*, a fim de eliminar a utilização da pasta condutora de prata e reforçar o acoplamento entre o dispositivo e a placa de circuito impresso;
- VIII. **Caracterização:** É preciso a elaboração de um sistema próprio para a caracterização das sondas neurais de forma rápida e contínua. Desta forma, mais dispositivos poderão ser avaliados. Além disso, é esperado uma análise estatística da quantidade de microeletrodos e dispositivos funcionais;
- IX. **Eletrodeposição:** Estudo da viabilidade da eletrodeposição como etapa da produção de sondas neurais. Visto que a eletrodeposição de Au sobre Ti foi capaz de alterar a impedância do dispositivo, permitindo o registro da atividade neural;
- X. **Experimentos *in vivo*:** Por fim, novos experimentos *in vivo* deverão ser realizados para confirmação da funcionalidade dos dispositivos fabricados e comparação entre os diferentes metais. Em particular, foi sugerido que as sondas neurais de SU-8 seriam alternativas viáveis para experimentos de optogenética, dado o baixo artefato óptico detectado. Assim, novos testes deverão ser efetuados com intuito de replicar este resultado.

7. Referências

- [1] Chollet, F.; Liu, H.; *A (not so) short introduction to MEMS*; memscyclopedia.org, pag. 9.
- [2] Bashir R. BioMEMS: state-of-the-art in detection , opportunities and prospects. 2004;56:1565–1586.
- [3] Voldman J, Gray ML, Schmidt M a. *Microfabrication in biology and medicine*. Annu Rev Biomed Eng. 1999;1:401–25.
- [4] Cheung, K. C.; Renaud, P.; *BioMEMS for medicine: On-chip cell characterization and implantable microelectrodes*; Solid State Electron. 2006;50 (4):551–557.
- [5] Clark, G. M.; *The multiple-channel cochlear implant: the interface between sound and the central nervous system for hearing, speech, and language in deaf people-a personal perspective*; Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2006; 361(1469):791–810.
- [6] Wang, J.; Gulari, M.; Wise, K. D.; *An integrated position-sensing system for a MEMS-based cochlear implant*; Electron Devices Meeting, 2005.
- [7] Miocinovic, S.; Somayajula, S.; Chitnis, S.; Vitek, J. L.; *History, applications, and mechanisms of deep brain stimulation*; JAMA Neurol. 2013;70(2):163–71.
- [8] Grayson, A. C. R.; Shawgo, R. S.; Johnson, A. M., et al.; *A BioMEMS Review : MEMS Technology for Physiologically Integrated Devices*; Proceedings of the IEEE, 2004;92(1).
- [9] Ruhe, J.; Biesalski, M.; *1.05 Biocompatibility of Microsystems - Comprehensive Microsystems*; Elsevier, 2008.
- [10] Schanne, O. F.; Lavallée, M.; Laprade, R.; Gagné, S.; *Electrical properties of glass Microelectrodes*; Proc. IEEE, vol. 56, pp. 1072–1082, Jun. 1968.
- [11] Banks, D.; *Neurotechnology*; Engineering Science Education Journal, 1998;(June).
- [12] HajjHassan, M.; Chodavarapu, V.; Musallam, S.; *NeuroMEMS: Neural Probe Microtechnologies*; Sensors. 2008;8(10):6704–6726.
- [13] Spieth, S., et al., *A floating 3D silicon microprobe array for neural drug delivery compatible with electrical recording*; J. Micromechanics Microengineering; vol. 21, no. 12, Dec. 2011.
- [14] Frey, O., et al.; *Enzyme-based choline and L-glutamate biosensor electrodes on silicon microprobe arrays*; Biosens. Bioelectron., vol. 26, no. 2, pp. 477–84, Oct. 2010.

- [15] Maesoon Im et al.; *A Dual-Shank Neural Probe Integrated with Double Waveguides on Each Shank for Optogenetic Applications*; 33rd Annual International Conference of the IEEE EMBS, 2011.
- [16] Murthy, R. B., et al.; *Design and fabrication of Si-neuroprobe arrays*. 2010 12th Electron Packag Technol Conf. 2010:796–800.
- [17] HajjHassan, M.; Chodavarapu, V.; Musallam, S.; *Microfabrication of ultra-long reinforced silicon neural electrodes*. Micro & Nano Letters 2009;(January):53–58.
- [18] Du, J., et al.; *Multiplexed, high density electrophysiology with nanofabricated neural probes*. PLoS One. 2011;6(10):e26204.
- [19] Wise, K. D.; Sodagar, A. M.; Yao, Y.; Gulari, M. N.; Perlin, G. E.; Najafi, K.; *Implantable Neural Microsystems*; Proceedings of the IEEE 2008;96(7).
- [20] Subbaroyan, J.; Marin, D. C.; Kipke, D. R.; *A finite-element model of the mechanical effects of implantable microelectrodes in the cerebral cortex*. J Neural Eng. 2005;2(4):103-13
- [21] Letamendi, A. A.; *SU-8 MICROPROBES FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS*, PhD Thesis. 2012;(June).
- [22] Mercanzini A., et al.; *Demonstration of cortical recording using novel flexible polymer neural probes*. Sensors Actuators A Phys. 2008;143(1):90–96..
- [23] Cheung, K. C., et al. *Flexible polyimide microelectrode array for in vivo recordings and current source density analysis*. Biosens Bioelectron. 2007;22(8):1783–90.
- [24] Chen, Y-Y, Lai, H-Y, Lin, S-H, et al. *Design and fabrication of a polyimide-based microelectrode array: application in neural recording and repeatable electrolytic lesion in rat brain*. J Neurosci Methods. 2009;182(1):6–16.
- [25] Lee, K.; He, J.; Clement, R.; Massia, S., Kim, B.; *Biocompatible benzocyclobutene (BCB)-based neural implants with micro-fluidic channel*. Biosens Bioelectron. 2004;20(2):404–7.
- [26] Pang, C. *Parylene Technology for Neural Probes Applications*. PhD Thesis, Caltech 2008
- [27] Fernández, L. J.; Altuna, A.; Tijero, M., et al.; *Study of functional viability of SU-8-based microneedles for neural applications*. J Micromechanics Microengineering. 2009;19(2):025007.
- [28] Tijero M, Gabriel G, Caro J, et al. *SU-8 microprobe with microelectrodes for monitoring electrical impedance in living tissues*. Biosens Bioelectron. 2009;24(8):2410–6.
- [29] Altuna A, Gabriel G, Menéndez de la Prida L, et al. *SU-8-based microneedles for in vitro neural applications*. J Micromechanics Microengineering. 2010;20(6):064014.

- [30] Altuna A, Menendez de la Prida L, Bellistri E, et al. *SU-8 based microprobes with integrated planar electrodes for enhanced neural depth recording*. Biosens Bioelectron. 2012;37(1):1–5.
- [31] Altuna A, Bellistri E, Cid E, et al. *SU-8 based microprobes for simultaneous neural depth recording and drug delivery in the brain*. Lab Chip. 2013;13(7):1422–30.
- [32] Bin Fan et al., *An Implantable, Miniaturized SU-8 Optical Probe for Optogenetics-Based Deep Brain Stimulation*, (2014).
- [33] Wang, W.; Soper, S. A.; *Bio-MEMS Technologies and Application*; CRC Press, 2007.
- [34] Nemani K. V.; Moodie K. L.; Brennick J. B.; Su A.; Gimi B.; *In vitro and in vivo evaluation of SU-8 biocompatibility*. Mater Sci Eng C Mater Biol Appl. 2013;33(7):4453–9.
- [35] Ziaie, B.; *Hard and soft micromachining for BioMEMS: review of techniques and examples of applications in microfluidics and drug delivery*; Adv Drug Deliv Rev. 2004; 56(2):145–172.
- [36] Madou, M. J.; *Fundamentals of Microfabrication: The Science of Miniaturization*; CRC PRESS, 2^a edição, 2002.
- [37] Lyshevski, S. E.; *Nano- and Micro- Electromechanical Systems: Fundamentals of Nano- and Microengineering*; CRC PRESS, 2^a edição, 2005.
- [38] Hierlemann A., Brand O.; Hagleitner C., Baltes H.; *Microfabrication techniques for chemical/biosensors*; Proc IEEE. 2003;91(6):839–863.
- [39] Ciarlo, D.; *Microfabrication techniques and applications*; IEEE Potentials, October 1990; 13–16.
- [40] Bustillo, J. M.; Howe, R. T.; Muller, R. S.; *Surface Micromachining for Microelectromechanical Systems*; Proceedings of the IEEE, Vol. 86, NO. 8, 1998.
- [41] Franssila, S.; *Introduction to Microfabrication*; John Wiley and Sons, Ltda, 2^a edição, 2010.
- [42] Pimpin, A.; Srituravanich, W.; *Review on Micro- and Nanolithography Techniques and their Applications*; Eng J. 2012; 16 (1):37–56.
- [43] MicroChemicals; *Resists, Developers and Removers*; 2013.
- [44] MicroChemicals; *Lift-off Processes with Photoresists*; 2013.
- [45] MicroChemicals; *Softbake of Photoresist Films*; 2013.
- [46] MicroChemicals; *Baking Steps in Photoresists Processing*; 2013.

- [47] MicroChemicals; *Hardbake of Photoresist Structures*; 2013.
- [48] Losey, M. W.; Kelly, J. J.; *1.10 Electrodeposition - Comprehensive Microsystems*; Elsevier, 2008.
- [49] Wang, W.; Soper, S. A.; *Bio-MEMS Technologies and Application*; CRC Press, 2007.
- [50] Lent, R.; *Cem Bilhões de Neurônios? Conceitos Fundamentais de Neurociência*; Atheneu, 2º Edição.
- [51] Pearce TM, Williams JC. *Microtechnology: meet neurobiology*. Lab Chip. 2007;7(1):30–40.
- [52] <http://www.ipkiss.org/>, acessado em 01/2016
- [53] <http://www.klayout.de/>, acessado em 01/2016
- [54] IPKISS/PICAZZO version 2 tutorial v0.1 documentation.
- [55] MicroChem, “NANO™ ANO™ SU-8 Negative Tone Photoresist Formulations 2 - 25.”
- [56] MicroChem, “NANO™ ANO™ SU-8 Negative Tone Photoresist Formulations 50 - 100.”
- [57] Sameoto, D., Tsang, S.-H., Foulds, I.G., Lee, S.-W., Parameswaran, M.; *Control of the out-of-plane curvature in SU-8 compliant microstructures by exposure dose and baking times* (2007) Journal of Micromechanics and Microengineering, 17 (5), art. no. 032, pp. 1093-1098
16
- [58] Research Products Catalog 2012, NeuroNexus.
- [59] Cogan, S. F.; *Neural stimulation and recording electrodes*. Annu Rev Biomed Eng. 2008;10:275–309.
- [60] Guevara, J. A. B.; *Método de fabricação e caracterização de sondas neurais de SU-8*; Dissertação de Mestrado, Unicamp, 2015.

Apêndice A

Protocolos de fabricação

Os processos usuais de microfabricação (litografia, deposição e corrosão) consistem da execução sequencial e contínua de diferentes etapas. Os protocolos seguidos dependem dos materiais a serem utilizados e dos processos subsequentes. Os resultados, por sua vez, dependem intrinsecamente dos parâmetros envolvidos nos diferentes estágios destes processos (rotações por minuto, tempo, temperatura, dose, etc). Esta seção contém a descrição dos protocolos e parâmetros utilizados durante o desenvolvimento deste trabalho.

A.1 SU-8

Neste trabalho foram utilizados duas formulações de SU-8 (MicroChem) como material estrutural das sondas neurais: SU-8 2 e SU-8 50. Os protocolos seguidos são derivados dos *datasheets* fornecidos pelo fabricante [50, 51], entretanto os parâmetros utilizados foram determinados mediante constante caracterização e otimização dos processos, dados os equipamentos e materiais disponíveis no laboratório. O procedimento usual é constituído das seguintes etapas: deposição (*spin-coating*), *soft bake*, exposição, *post expose bake*, revelação e *hard bake*. A seguir estão descritos a sequência de etapas para deposição e exposição de ambos SU-8.

A.1.1 SU-8 2

- I. Deposição do SU-8 2 sob a amostra;
- II. Rotação com o *spinner* por:
 - i. 40 segundos à X RPM, onde X depende da espessura desejada e da solução de SU-8 utilizada (Figura A.1 e Tabela A.2).

- III. *Soft Bake*:
- i. 1 minuto à 65°C;
 - ii. Aumentar até 95°C;
 - iii. 2 minutos à 95°C.
- IV. Exposição com a máscara por T segundos;*
- V. *Post Bake*:
- i. 1 minuto à 65°C;
 - ii. Aumentar até 95°C;
 - iii. 1 minuto à 95°C.
- VI. Revelar (Revelador próprio de SU-8):
- i. 30 segundos no revelador;
 - ii. Lavar com isopropanol.
- VII. Inspeccionar com microscópio. Se o padrão foi transferido com sucesso, seguir adiante. Caso contrário, utilizar o Removedor de SU-8 (Remover PG, MicroChem) e voltar ao passo I;
- VIII. *Hard Bake*:
- i. 5 minutos à 150°C.

$$* T = \frac{Dose}{Intensidade}$$

Onde *Dose* é a dose necessária para exposição do material e *Intensidade* é a intensidade da lâmpada utilizada durante a fotolitografia. A Tabela A.1 apresenta a dose necessária para os diferentes substratos utilizados.

Tabela A.1: Doses utilizadas para os diferentes substratos.

Substrato	Dose
Si/Al; Vidro/Al	10 mJ/cm ²
Vidro	80 mJ/cm ²

A espessura do filme de SU-8 depende de diversos fatores, como viscosidade do polímero, velocidade e tempo de rotação, e quantidade de solvente. Neste trabalho foram utilizadas espessuras no intervalo entre 200 – 1500 nm. Para obtenção de espessuras baixas (abaixo de 1 μm) foram utilizadas soluções 1:1, 2:1 e 3:1 de SU-8 2 com seu solvente característico (ciclopentanona). Já para espessuras maiores não houve a necessidade de diluição (Tabela A.2). A Figura A.1 apresenta as curvas de espessura das soluções para diferentes rotações.

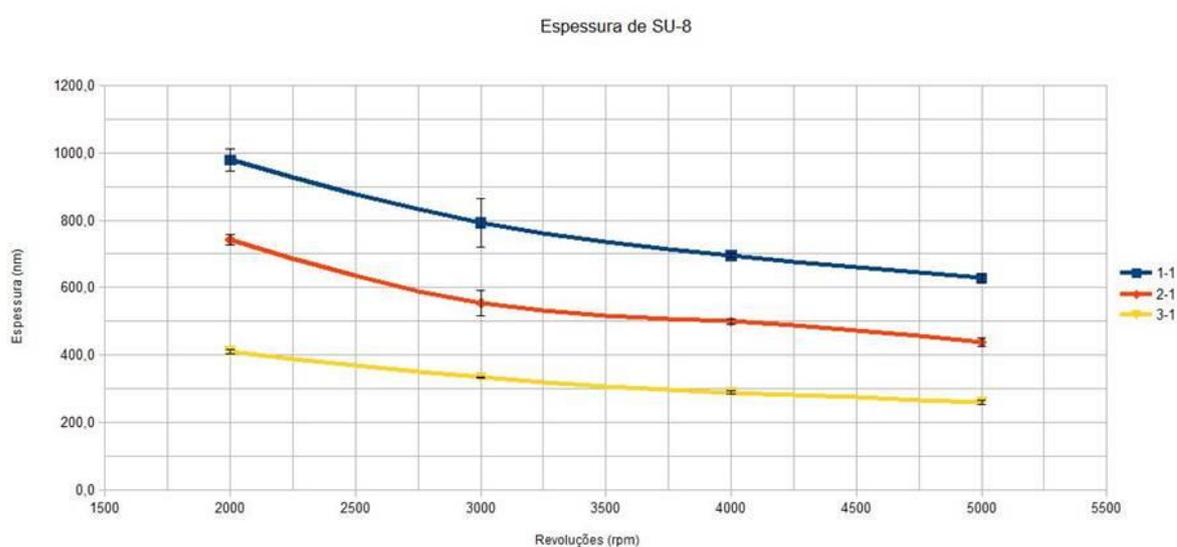


Figura A.1: Espessura X RPM para diferentes diluições de SU-8 2.

Tabela A.2: Espessura de SU-8 2 obtida com diferentes rotações, sem diluição. Dados fornecidos pelo *datasheet* [50].

	Espessura (μm)	Rotação (RPM)
	1,5	3000
SU-8 2	2,0	2000
	5,0	1000

Além disso, sabe-se que quanto maior for a espessura do filme depositado maior é a dose necessária para sensibilizar o material, entretanto foi constatado que para todas as espessuras de SU-8 2 utilizadas neste trabalho não houve a necessidade de alterar o valor da dose.

A.1.2 SU-8 50

- I. Deposição do SU-8 50 sob a amostra;
- II. Rotação com o *spinner* por:
 - i. 50 segundos à 2000 RPM;

Obs.: Para a espessura utilizada de 50 μm .
- III. *Soft Bake*:
 - i. 10 minutos à 65°C;
 - ii. Aumentar até 95°C;
 - iii. 30 minutos à 95°C.
- IV. Exposição com a máscara por T segundos;*
- V. *Post Bake*:
 - i. 3 minutos à 65°C;
 - ii. Aumentar até 95°C;
 - iii. 10 minutos à 95°C.
- VI. Revelar (Revelador próprio de SU-8):
 - i. \approx 3 minutos no revelador. Fazer uso de dois béquers, metade do tempo em cada um;
 - ii. Lavar com isopropanol.
- VII. Inspeccionar com microscópio. Se o padrão foi tranferido com sucesso, seguir adiante. Caso contrário, utilizar o Removedor de SU-8 (Remover PG, MicroChem) e voltar ao passo I;
- VIII. *Hard Bake*:
 - i. 8 minutos à 150°C.

$$* T = \frac{Dose}{Intensidade}$$

Onde *Dose* é a dose necessária para exposição do material e *Intensidade* é a intensidade da lâmpada utilizada durante a litografia. Neste trabalho foi depositado 50 µm de SU-8 50. Para esta espessura foi necessário 2000 RPM e $Dose = 240 \text{ mJ/cm}^2$. Vale ressaltar que não foi constatado alterações devido os diferentes substratos utilizados. A Tabela A.3 apresenta as rotações necessárias para obtenção de outras espessuras. Entretanto, para cada caso o valor ideal da dose necessária deve ser obtido mediante caracterização.

Tabela A. 3: Espessura de SU-8 50 obtida com diferentes rotações. Dados fornecidos pelo *datasheet* [51].

	Espessura (µm)	Rotação (RPM)
	40	3000
SU-8 50	50	2000
	100	1000

A.2 Fotorresiste AZ 5214

Neste trabalho o fotorresiste positivo AZ 5214 foi utilizado para realização do *lift-off* e inversão de imagem. A seguir estão descritos os processos e parâmetros utilizados.

A.2.1 Inversão de Imagem

- I. Deposição do AZ 5214 sob a amostra;
- II. Rotação com o *spinner* por:
 - i. 35 segundos à 3000 RPM;
- III. *Pre Bake*:
 - i. 1 minuto à 110°C;
- IV. Exposição com a máscara por T segundos;*
- V. *Image Reversal Bake*:
 - i. 1 minuto à 120°C;
- VI. Exposição sem máscara (*flood*) por 25 segundos;

VII. Revelação:

- i. 30 segundos no MIF 300;
- ii. Lavar com água DI.

$$* T = \frac{Dose}{Intensidade}$$

Onde *Dose* é a dose necessária para exposição do material e *Intensidade* é a intensidade da lâmpada utilizada durante a litografia. A Tabela A.4 apresenta as doses utilizadas para os diferentes substratos. Nota-se que neste procedimento há duas exposições: com e sem a máscara. No primeiro é exposto o padrão desejado. No segundo, denominado de *flood*, a amostra é totalmente exposta, e ambos o tempo de exposição e dose não são críticos para realização do procedimento, desde que seja $> 200 \text{ mJ/cm}^2$ [38]. Desta forma, o tempo de 25 segundos foi escolhido para garantir este vínculo. Vale ressaltar que os processos de *bake* se mostraram fundamentais para realização da inversão de imagem.

Tabela A. 4: Doses utilizadas para os diferentes substratos.

Substrato	Dose
Si/Al; Vidro/Al	60 mJ/cm ²
Vidro	120 mJ/cm ²

Por fim, vale ressaltar que foi observado grande variabilidade dos parâmetros utilizados nestes processos, provavelmente causado pela validade dos materiais disponíveis no laboratório. Desta forma, houve a constante necessidade de caracterização.

Apêndice B

B.1 Trabalhos apresentados

A lista a seguir exhibe os trabalhos apresentados durante a execução deste projeto:

- I. **MALAVAZI, A. H. A.**; GUEVARA, J. A. B.; COVOLAN, R. J. M.; PANEPUCCI, R. R.; *Microfabrication and Characterization of SU-8 Based Neural Probes*. 7th International IEEE EMBS Neural Engineering Conference. França. 2015.
- II. **MALAVAZI, A. H. A.**; GUEVARA, J. A. B.; BORTOLOTO, C. E.; COVOLAN, R. J. M.; PANEPUCCI, R. R.; *Development of Polymer-based Neural Probes*. 2º Congress CEPID BRAINN. Campinas. 2015.
- III. GUEVARA, J. A. B.; **MALAVAZI, A. H. A.**; PANEPUCCI, R. R.; COVOLAN, R. J. M.; BROLO, A. G.; *Electrochemical study for polymer-based neural probes*. 2º Congress CEPID BRAINN. Campinas. 2015.
- IV. **MALAVAZI, A. H. A.**; GUEVARA, J. A. B.; FINARDI, M. R.; COVOLAN, R. J. M.; PANEPUCCI, R. R.; *BioMEMS-based Neurotechnology*. 1º Congress CEPID BRAINN. Campinas. 2014.
- V. GUEVARA, J. A. B.; **MALAVAZI, A. H. A.**; FINARDI, M. R.; COVOLAN, R. J. M.; PANEPUCCI, R. R.; *Technology of Electroactive and Biocompatible Materials for Neural Probes*. 1º Congress CEPID BRAINN. Campinas. 2014.
- VI. **MALAVAZI, A. H. A.**; GUEVARA, J. A. B.; COVOLAN, R. J. M.; PANEPUCCI, R. R.; *Design and Microfabrication Methodology of SU-8 Based Neural Probes*. XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica. Uberlândia. 2014.

- VII. GUEVARA, J. A. B.; MALAVAZI, A. H. A.; PANEPUCCI, R. R.; COVOLAN, R. J. M.; ELY, F.; *Caracterização Eletroquímica de Microeletrodos em Sondas Neurais Baseadas no Polímero SU-8*. XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica. Uberlândia. 2014.
- VIII. GUEVARA, J. A. B.; MALAVAZI, A. H. A.; COVOLAN, R. J. M.; PANEPUCCI, R. R.; BROLO, A. G.; *Development of SU-8 Based Neural Probes*. Canadá. 2014.
- IX. MALAVAZI, A. H. A.; GUEVARA, J. A. B.; PANEPUCCI, R. R.; COVOLAN, R. J. M.; FINARDI, M. R.; *Desenvolvimento de Sondas Neurais para registro e estímulo da Atividade neuronal*. V Simpósio Internacional em Neuromodulação. São Paulo. 2013.
- X. MALAVAZI, A. H. A.; GUEVARA, J. A. B.; PANEPUCCI, R. R.; COVOLAN, R. J. M.; FINARDI, M. R.; *Desenvolvimento de microssondas para neurociências*. XXI Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp. Campinas. 2013.

B.2 Prêmios

- I. **2015**, Melhor trabalho apresentado na área: Neurotechnology, *2nd BRAINN Congress*, UNICAMP;
- II. **2015**, Co-autor de trabalho de destaque na área: Neurotechnology, *2nd BRAINN Congress*, UNICAMP;
- III. **2014**, Menção Honrosa Prêmio Cândido Pinto de Melo, Sociedade Brasileira de Engenharia Biomédica. *Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica*, Uberlândia.