

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

ALAN RIBEIRO DOS REIS

DESENVOLVIMENTOS MECÂNICOS E COMPUTACIONAIS DE
SUPORTE ÀS MEDIDAS COM SENSORES TERMOELÁSTICOS

SÃO CARLOS, SP

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

ALAN RIBEIRO DOS REIS

DESENVOLVIMENTOS MECÂNICOS E COMPUTACIONAIS DE
SUPORTE ÀS MEDIDAS COM SENSORES TERMOELÁSTICOS

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós Graduação em
Biotecnologia da Universidade
Federal de São Carlos, para
obtenção do título de Mestre em
Biotecnologia.

ORIENTADORES: PROF. DR. JOSÉ DALTON CRUZ PESSOA
PROF. DRA. CRISTIANE SANCHEZ FARINAS

SÃO CARLOS, SP
2011

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

R375dm

Reis, Alan Ribeiro dos.

Desenvolvimentos mecânicos e computacionais de suporte às medidas com sensores termoelásticos / Alan Ribeiro dos Reis. -- São Carlos : UFSCar, 2012.
90 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2011.

1. Biotecnologia. 2. Sonda termoelástica. 3. Automação.
4. Órgão vegetal. 5. Turgor celular. 6. Células. I. Título.

CDD: 660.6 (20ª)

Alan Ribeiro dos Reis

Dissertação de Mestrado submetida
à Coordenação do Programa de
Pós-Graduação em Biotecnologia,
da Universidade Federal de São
Carlos, como requisito parcial para
a obtenção do título de Mestre em
Biotecnologia

Aprovado em: 30/08/2011

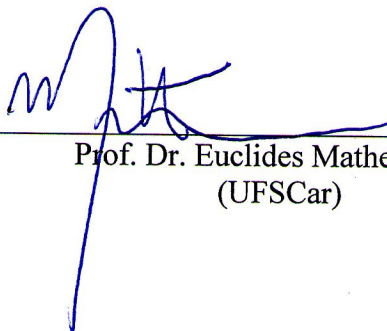
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. José Dalton Cruz Pessoa (Orientador)
(EMBRAPA)



Prof. Dr. Rafael Vieira de Souza
(Uniararas)



Prof. Dr. Euclides Matheucci Jr.
(UFSCar)

À Iraí e aos meus pais, Reis e
Marilda, com todo meu
carinho, dedico.

*“Eu vi um menino correndo,
eu vi o tempo.
Brincando ao redor do caminho
daquele menino.
Eu pus os meus pés no riacho
e acho que nunca os tirei.
O sol ainda brilha na estrada
que eu nunca passei.”*

Caetano Veloso

Agradecimentos

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de São Carlos e à Embrapa Instrumentação pela infraestrutura;

Aos meus orientadores Dr. José Dalton Cruz Pessoa e Dra. Cristiane Sanches Farinas pelo suporte, conhecimentos e oportunidades para o desenvolvimento desta dissertação;

Aos membros da banca de qualificação Dra. Tatiane Regina Albarici, Dr. Rubens Bernardes Filho e Dr. Marcos David Ferreira;

Ao Dr. Rafael Vieira de Sousa e ao Dr. Euclides Matheucci Junior por terem aceitado participar da banca examinadora da minha dissertação;

Ao Dr Ednilsom Orestes por ter aceitado ser suplente da banca examinadora da dissertação;

Ao Dr. Adonai Gimenez Calbo pelo auxílio e prontidão em sanar minhas dúvidas;

Ao Jorge e Godoy que muito contribuíram para execução dos projetos mecânicos;

Ao Macunaíma por toda ajuda e paciência;

Aos meus colegas de laboratório: Ana Lúcia, Cléia, Gisele, Thais, Danieli, Valquíria, Sandra, Karina, Tati, Diego e Raphael, pelos momentos engraçados ou não, mas sempre bons momentos;

Ao Delson, Sakai, Gilberto, William, Ivana, Rafael, Arai, Zorel e toda equipe da Uniararas pelo apoio fundamental na execução deste trabalho;

Aos meus amigos de Goiânia: Thiago, Vitor, Rodolfo, Leandro B., Michel e Amaral pela amizade de décadas;

Aos meus amigos de São Carlos: Jeferson Camarão, Nestor, Ed., Sagu, Siri, Cabelo e todos os outros que fazem ou já fizeram capoeira no CAASO. Um axé meus camaradas!

A toda minha família que deixei em Goiânia para correr atrás deste sonho.

Agradeço a minha mãe, Marilda, e ao meu pai, Reis, por toda dedicação, luta, tranquilidade e apoio que me deram durante todos os momentos e escolhas da minha vida.

A Iraí por ser *simplesmente* assim, Iraí. E aos pais dela Rosane e Teixeira.

E finalmente agradeço a Deus por me fazer acreditar e ser feliz!

Lista de figuras

Figura 1: Representação 3D da montagem da Sonda Termoelástica proposta por Pessoa (1999).	13
Figura 2: Primeira versão da sonda de pressão construída para medição de turgor em células gigantes de algas. Fonte: STEUDLE, 1993.....	18
Figura 3: Segunda versão da sonda utilizada em células grandes e equipada com sistema micrométrico graduado para controle da variação de volume aplicada. Fonte: STEUDLE, 1993.	18
Figura 4: Terceira versão da sonda de pressão utilizada para medição do turgor em células de plantas superiores. Fonte:HUSKEN et al, 1978.....	20
Figura 5: Representação 3D da base principal e lista de peças.....	29
Figura 6: A) Representação 3D da montagem do carro porta amostra; B) Vista explodida do carro porta amostra e lista de peças.....	30
Figura 7: Representação 3D do carro porta sensor e lista de peças.	31
Figura 8: Detalhes construtivos do regulador térmico.	32
Figura 9: Representação 3D do sistema óptico e lista de peças.	33
Figura 10: Fluxograma representativo do algoritmo do software para medida das características geométricas do sensor termoelástico.....	34
Figura 11: Representação das medições para calibração da relação $\mu\text{m}/\text{pixel}$	35
Figura 12: Representação da seqüência de ações para obtenção do capilar: 1- Aquecimento, 2- Esticamento.	38
Figura 13: Desenho em 3D do <i>puller</i> e lista de peças.....	40
Figura 14: Características geométricas da ponta do sensor termoelástico.....	41
Figura 15: Vista explodida da lixadeira e lista de peças.	42
Figura 16: Representação 3D do conjunto lixadeira e braço articulado.	43
Figura 17: Representação 3D do braço articulado e lista de componentes.....	44
Figura 18: Representação esquemática da etapa de enchimento do capilar.....	45

Figura 19: Representação esquemática da montagem para operação de vedação.	46
Figura 20: Fluxograma representativo da implementação do programa “DETEC.a”	48
Figura 21: Representação do diagrama de blocos para uma entrada do tipo degrau em malha aberta.	49
Figura 22: Resposta experimental normalizada do sistema em função de entrada degrau (em azul) e resposta característica simulada de sistemas de 1ª ordem (em vermelho).	50
Figura 23: Diagrama de blocos para controle do sistema realimentado.	51
Figura 24: Gráfico representativo da máxima ultrapassagem percentual em função do fator de amortecimento para sistemas de segunda ordem.	54
Figura 25: Representação do tempo para acomodação a 98% do valor de regime estacionário para sistema de segunda ordem proposto, sujeito à entrada degrau.....	55
Figura 26: Montagem para calibração do sensor termoelástico, pelo levantamento da curva de pressão por potência, aplicadas para manutenção da posição inicial do menisco.....	57
Figura 27: Fluxograma representativo do algoritmo do software “ST.aut”, proposto para cálculo do turgor em ST.....	58
Figura 28: Representação do local de medição do turgor em cebola (<i>Allium cepa</i>) integra.....	59
Figura 29: Representação do local de medição do turgor em cebola (<i>Allium cepa L.</i>) lesionada..	60
Figura 30: Representação 3D da montagem completa para sistema de medição de turgor baseado no princípio da termoelasticidade.	61
Figura 31: Foto do sistema construído para medição de turgor baseado no princípio da termoelasticidade.....	62
Figura 32: Exemplos de pontas obtidas em função da tensão aplicada ao aquecedor: 2,50V; 2,75V e 3,00V para as situações A, B e C respectivamente.	63
Figura 33: Diagrama de corpo livre para esforço resultante do contato do capilar com a lixa parada.	67
Figura 34: Posição do menisco dentro do capilar para temperatura e pressão constantes.	69
Figura 35: Gráfico da posição do menisco em função do tempo para temperatura e pressão constantes. Sinal de ruído sem filtro em azul e após o tratamento com filtro de média móvel para 5 iterações em vermelho.....	70
Figura 36 - Gráfico da posição do menisco em 45 minutos de monitoramento contínuo.....	70

Figura 37: Resposta da planta a degraus sucessivos de 0,025 V, 0,050 V e 0,075 V, com valor inicial de tensão igual a 0,9 V.	71
Figura 38: Resposta da planta a degrau de 0,015 V com valor inicial de tensão igual a 1,000 V.	72
Figura 39: Resposta experimental da planta a uma entrada degrau de 0,025 V (em azul) e resposta simulada conforme FT característica.	72
Figura 40: Resposta experimental da planta controlada com PI proposto (em azul) e resposta simulada conforme equação 21.	73
Figura 41: Gráfico da relação entre pressão e potência fornecida ao sistema ($P = 3392,4 \times P_{OT}$, $R^2 = 0,9778$).	74
Figura 42: Gráfico da medição do turgor em célula de cebola (<i>Allium cepa L.</i>) (vermelho) e gráfico da posição do menisco durante a medição do turgor (azul).	75
Figura 43: Representação do comportamento do valor do turgor celular em função do tamanho da lesão por punção e da distância de medição em relação a injúria em cebola (<i>Allium cepa L.</i>).	77
Figura 44: Sub-rotina de aquisição de imagem.	86
Figura 45 : Sub-rotina para cálculo do comprimento da reta selecionada (em m e pixel), ângulo e posição do menisco óleo/citoplasma sobre a reta.	87
Figura 46: Sub-rotina de controle da posição do menisco durante a medida automática de turgor.	88
Figura 47: Sub-rotina de cálculo da Pressão de turgescência celular.	89
Figura 48: Sub-rotina de gravação de dados em arquivo [.txt].	90

Lista de tabelas

Tabela 1: Quadro de elementos do PDS para desenvolvimento do projeto conceitual de uma Sonda Termoelástica. Adaptado de (CAMAROTO, 2005).	26
Tabela 2: Parâmetros necessários para obtenção de sensores para medida de turgor celular em ST.	36
Tabela 3: Tabela de Routh para polinômio característico da função de transferência do sistema controlado por PI com realimentação.....	53
Tabela 4: Características geométricas das pontas dos sensores, obtidas em diferentes níveis de tensão.....	64
Tabela 5: ANOVA fator único a 5% para determinação da influência da tensão no diâmetro da ponta obtida.	64
Tabela 6: ANOVA fator único a 5% para determinação da influência da tensão na cônica da ponta obtida.	65
Tabela 7 - Taxa de aproveitamento de sensores em função da rota de fabricação.	68
Tabela 8: Quadro comparativo do desempenho simulado e real para controlador “PI” proposto.	73

Lista de abreviaturas e siglas

a	-	Coefficiente angular da reta de calibração do sistema de medição de turgor.
β	-	Coefficiente para cálculo da resposta transitória em sistemas de segunda ordem.
$C(s)$	-	Função transferência do controlador.
dP	-	Varição infinitesimal da pressão atuante sobre o fluido sensor.
dV	-	Varição infinitesimal do volume de fluido sensor.
ΔV	-	Varição de volume do fluido sensor.
ΔP	-	Varição da pressão sobre o fluido sensor.
Δpx	-	Varição da posição do menisco em pixel.
ΔV_T	-	Varição da tensão correspondente ao sinal degrau de entrada para planta.
E	-	Módulo de elasticidade do capilar.
ε	-	Elasticidade da parede celular.
F_c	-	Força de corte.
f	-	Flecha indicativa da deformação do capilar durante a operação de lichamento.
$G(s)$	-	Função transferência em malha aberta.
$G_{MF}(s)$	-	Função transferência de sistema em malha fechada.
I	-	Momento de inércia relativo à área transversal do corpo do capilar.
IDE	-	Ambiente para desenvolvimento integrado de programas.
IT	-	Índice de tolerância.
K_0	-	Ganho do sistema de primeira ordem.
K_{oil}	-	Coefficiente de elasticidade do óleo.
K_p	-	Ganho proporcional do sistema de segunda ordem.
K_P	-	Ganho proporcional do controlador.
L	-	Comprimento do capilar submetido a esforços durante a operação de lichamento.
L_p	-	Condutividade hidráulica da membrana celular.
P	-	Pressão no interior do capilar.
P_c	-	Potência de corte.

- P_M - Potência do motor elétrico.
- P_{ot} - Potência elétrica fornecida ao sistema de aquecimento da Sonda Termoelástica.
- P_v - Carga perpendicular ao ponto de engaste do capilar.
- Ψ_W - Potencial de água na planta.
- Ψ_S - Potencial referente às propriedades coligativas da água.
- Ψ_P - Potencial da pressão hidrostática.
- r - Raio.
- R - Resistência.
- $R(s)$ - Erro do sistema realimentado.
- η - Rendimento da operação de usinagem.
- s - Operador “s”.
- T - Constante de tempo em sistema de primeira ordem.
- T_i - Constante de integração do controlador.
- θ - Coeficiente para cálculo da resposta transitória em sistemas de segunda ordem.
- ζ - Constante de amortecimento do sistema de segunda ordem.
- V_0 - Volume inicial da célula.
- V_{0_oil} - Volume inicial de fluido sensor (óleo) no interior do capilar.
- V_{app} - Volume interno do aparelho (Sonda de Pressão).
- V_{cc} - Diferença de potencial elétrico fornecido aos terminais da resistência da Sonda Termoelástica.
- V_{cel} - Volume celular.
- w - Velocidade angular.
- ω_n - Frequência natural do sistema de segunda ordem.
- $Y(s)$ - Resposta do sistema.

Resumo

A pressão hidrostática no interior da célula ou simplesmente turgescência celular é um importante componente da textura em vegetais e está diretamente relacionada à firmeza. A diminuição do turgor celular dos órgãos vegetais também é um indicador da perda de água dos tecidos. Tal efeito pode ser percebido de forma visual pela murcha acompanhada por uma aparência seca com a perda do brilho e da cor dos produtos, o que influencia a percepção do consumidor sobre sua qualidade. Dentro deste contexto foi trabalhada a técnica de medição de turgor com Sonda Termoelástica®¹ (ST) baseada no princípio de medição isovolumétrico. Após extensa revisão bibliográfica verificou-se que os trabalhos sobre ST publicados, apresentavam aprofundamento sobre a teoria de controle e modelagem física dos fenômenos envolvidos no processo de medição do turgor. Entretanto não traziam resultados práticos, contendo medidas automatizadas do turgor celular em vegetais. Este trabalho objetivou preencher esta lacuna. Neste sentido foi realizado o aprimoramento da metodologia de manufatura do sensor termoelástico juntamente com novo projeto mecânico da ST. A obtenção dos sensores se deu através das etapas de esticamento do capilar, confecção da ponta, lixamento, preenchimento com fluido sensor e selamento. O método para obtenção de sensores proposto apresentou taxa de aproveitamento mínima de 27,0 % representando uma melhoria de 540 % em relação aos valores apresentados pela literatura disponível. Já o novo projeto mecânico da ST melhorou sensivelmente o alinhamento e posicionamento relativo entre sensor, amostra e sistema de captura de imagens. O processo de troca de sensor e posicionamento da amostra para medição do turgor também foi facilitado, implicando em um tempo médio de 5 minutos para realização destas tarefas. Este fato marcou um grande avanço, visto que usuários da versão anterior relataram que esta tarefa poderia durar até 60 minutos. Tanto as atividades ligadas ao novo projeto mecânico da ST e ao aprimoramento da metodologia para obtenção de sensores termoelásticos foram predecessoras e preparatórias para desenvolvimento do controle automático da medição de turgor. A automação do

¹ Sonda Termoelástica® - Equipamento patenteado pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA) representada pela unidade especializada: EMBRAPA Instrumentação localizada em São Carlos - SP. A Sonda Termoelástica® tem a função de medir o turgor em células de vegetais, interagindo com o citoplasma através do princípio da termoelasticidade do fluido sensor.

processo de medição de turgor foi realizado após a implementação de um software para detecção da posição do menisco óleo/citoplasma baseado na determinação da diferença de contraste entre as fases formadas pelo fluido sensor (óleo) e líquido intracelular. Para controle automático da posição do menisco, foi implementado um controlador do tipo PI. Os valores propostos para os parâmetros do controlador Proporcional Integral selecionado permitiram o controle da posição do menisco e a determinação automática da turgescência em células de cebola (*Allium cepa L.*). De forma inédita, este trabalho caracteriza a primeira experiência bem sucedida na determinação automática de turgor em células de órgãos vegetais com ST.

Palavras-chave: Sonda Termoelástica, automação, órgão vegetal, turgor, célula, *Allium cepa L.*

Abstract

The hydrostatic pressure inside the cell or simply cell turgor is an important component of texture in vegetables and is directly related to firmness. The decrease in cell turgor of plant organs is also an indicator of loss of tissue water. This effect can be perceived visually by wilting accompanied by a dry appearance with the loss of brightness and color of products, which influences consumer perceptions about its quality. Within this context has been crafted technique for measuring turgor with Thermoelastic Probe® (TP) based on the principle of measuring isovolumetric. After an extensive literature review found that the published studies on TP, presented further on control theory and modeling of physical phenomena involved in the measurement of turgor. However not bring practical results, containing automated measurements of cell turgor in plants. This study aimed to fill this gap. In this direction was made improving of the method to manufacturing the sensor and a new mechanical design for TP. The attainment of the sensors is given through the steps of stretching the capillary, making the tip, sanding, filling and sealing fluid sensor. The method for obtaining the proposed sensor showed minimal utilization rate of 27.0% representing an improvement of 540% over the figures provided by the available literature. Since the new mechanical design of TP significantly improved the alignment and relative positioning of the sensor, sample and image capture system. The process of exchange of sensor and positioning of the sample for measurement of turgor was also facilitated, resulting in an average time of 5 minutes to perform these tasks. This marked a breakthrough since the previous version, users reported that this task could take up to 60 minutes. Both activities related to the new mechanical design of the ST and the improvement of the methodology for obtaining sensor thermoelastic were preparatory to the development of automatic control of turgor measurement. The automation of the measurement process was performed after the implementation of a software to detect the position of the meniscus oil / cytoplasm based on the determination of the difference in contrast between the phases formed by the fluid sensor (oil) and intracellular fluid. For automatic control of the position of the meniscus, was implemented a Proportional Integral type controller. The proposed values for the parameters of controller allowed the control of the selected position of the meniscus and automatic

determination of turgor pressure in cells of onion (*Allium cepa L.*). In an unprecedented manner, this paper makes the first successful experiment in automatic determination of cell turgor in plant organs with Thermoelastic Probe.

Keywords: Thermoelastic Probe, automation, plant organ, turgor, cell, *Allium cepa L.*

Sumário

Lista de figuras.....	i
Lista de tabelas.....	iv
Lista de abreviaturas e siglas.....	v
Resumo.....	vii
Abstract.....	ix
1. Introdução.....	12
2. Revisão Bibliográfica.....	16
2.1 Relações hídricas em plantas.....	16
2.2 Sondas de pressão.....	17
2.3 Sonda termoelástica.....	21
2.4 A importância do monitoramento automático em ambiente agrícola protegido para produção ou pesquisa.....	22
3. Justificativa.....	24
4. Objetivos.....	25
4.1 Objetivo Geral.....	25
4.2 Objetivos Específicos.....	25
5. Materiais e métodos.....	26
5.1 Projeto Mecânico e construção da Sonda Termoelástica.....	26
5.2 Software para medição das características geométricas do sensor.....	34
5.3 Manufatura do sensor.....	36
5.4 Software para detecção automática da posição do menisco.....	47
5.5 Software para medidas isovolumétricas.....	49
5.6 Medição automática do turgor em células de cebola (<i>Allium cepa L.</i>).....	59
6 Resultados e discussão.....	61
6.1 Projeto Mecânico e construção da Sonda Termoelástica.....	61
6.2 Software para medição das características geométricas do sensor.....	63
6.3 Manufatura do sensor.....	63
6.4 Software para detecção automática da posição do menisco.....	69
6.5 Software para medidas isovolumétricas.....	71
6.6 Medição automática do turgor em células de cebola (<i>Allium cepa L.</i>).....	75
7 Conclusões.....	78
8 Bibliografia.....	79
9 Apêndice – A Software.....	85

1. Introdução

A primeira versão da Sonda Termoelástica (ST) foi apresentada por Calbo e Pessoa (1999) e seu fundamento físico de medição foi baseado na expansibilidade e compressibilidade de líquidos sensores como água, mercúrio e óleo de silicone, podendo ser aplicada também a outros fluidos de interesse (PESSOA; CALBO, 1997). A versão proposta pelo autor foi utilizada em medições de coesão na superfície de raízes intactas e vasos do xilema com a finalidade de ampliar a faixa de tensões de água mensuráveis diretamente em plantas. Diferentemente das sondas de pressão utilizadas até aquele momento, a ST não utilizava pistão, o que lhe conferia maior robustez devido a menor quantidade de peças móveis, além de proporcionar maior facilidade de miniaturização e menor propensão ao embolismo² sob baixas pressões (CALBO; PESSOA, op cit). A ST apresentada pelos autores foi baseada no conceito de medição isovolumétrica do turgor. Neste método a pressão hidrostática celular pôde ser medida de acordo com o fluxo de calor requerido para causar uma expansão térmica do fluido sensor. Tal expansão tem a finalidade de compensar a redução do volume do líquido sensor causada pela pressurização após a perfuração da parede celular.

A ST desenvolvida por Calbo e Pessoa (op cit) contava com um banho termostatizado para manter o sensor a uma temperatura de referência durante a medição de turgor, porta amostra e um sistema óptico de captura de imagens para detecção da posição do menisco óleo/citoplasma (PESSOA, 1999).

O banho termostatizado era formado por uma cuba de cobre revestida por material isolante (isopor) nas laterais e base inferior. Foi acoplado sobre a base superior um aquecedor cilíndrico besuntado com pasta térmica para controle da expansibilidade térmica do óleo no interior do sensor. O aquecimento era controlado por Efeito Joule³ ao se alterar a tensão nas extremidades do aquecedor cilíndrico e a estabilização da temperatura era realizada pelo

² Embolismo – Fenômeno que ocorre devido à redução da pressão atuante sobre o fluido (abaixo da pressão de vapor) a uma determinada temperatura, fazendo com que ocorra a mudança do estado líquido para vapor (BISTAFA, 2010).

³ Efeito Joule – Fica evidenciado pelo calor gerado após a passagem de corrente elétrica por condutor em virtude da diferença de potencial elétrico aplicados aos seus terminais (INCROPERA; DE WITT, 1998).

banho contendo água a uma temperatura abaixo da ambiente (BERTUCCI NETO, 2005). Para garantir homogeneidade do banho de água foi instalado um sistema de agitação.

O sistema óptico utilizado foi composto por um estereoscópio colocado na posição vertical e uma câmera CCD⁴ acoplada. O aumento proporcionado por este sistema era de 100 vezes (BERTUCCI NETO, op cit). Nesta montagem tanto o banho termostatzado quanto o sistema óptico não estavam conectados a uma base ou sistema de posicionamento dificultando o alinhamento relativo entre sensor e sistema de captura de imagens. O posicionamento do sensor e da amostra em relação ao sistema de captura de imagens era feito pelo deslissamento do banho termostatzado e do porta amostra sobre uma superfície plana sem guia e besuntada com graxa de silicone. Em caso de troca do sensor por avaria, usuários relataram que esta tarefa poderia durar até 60 minutos. A Figura 1 representa a montagem descrita.

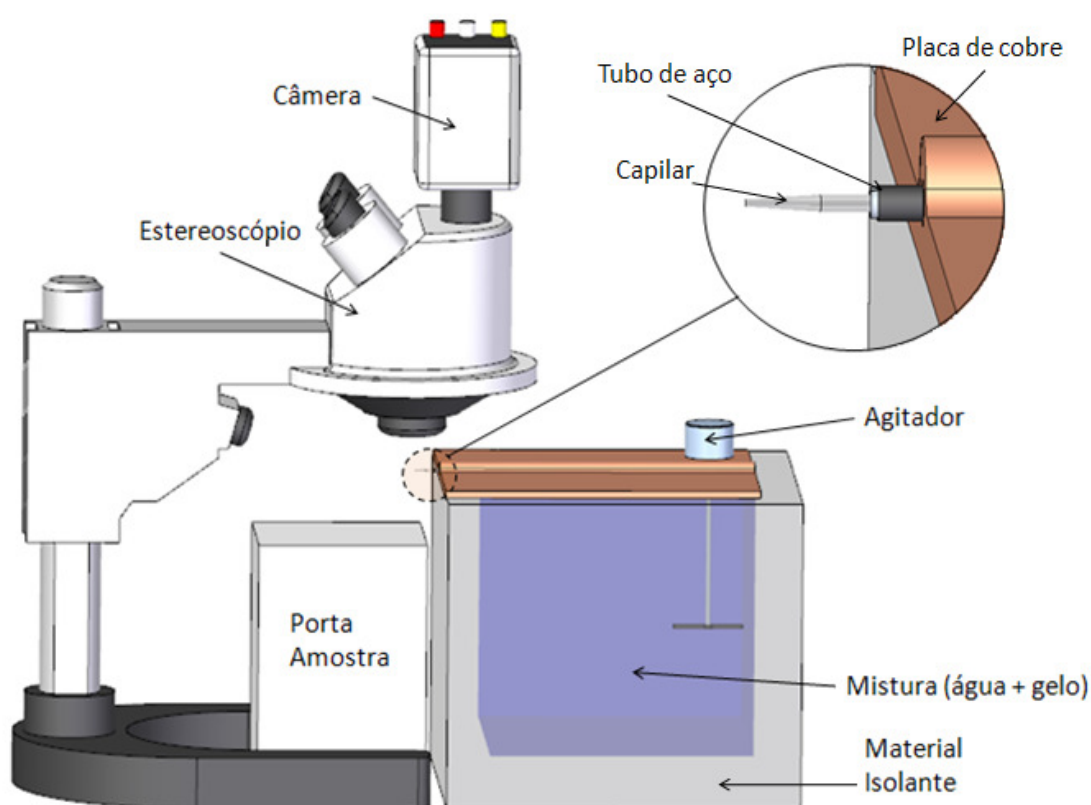


Figura 1: Representação 3D da montagem da Sonda Termoelástica proposta por Pessoa (1999).

⁴ Dispositivo de carga acoplada – CCD, sigla formada pelas iniciais de *Charge Coupled Device*.

Os sensores utilizados na ST eram obtidos em um processo bastante delicado e exclusivamente manual (PESSOA, 1999). No processo descrito pelo autor, um tubo de borossilicato com diâmetro externo de 1,5 mm, espessura de 0,25 mm e comprimento de 70 mm era exposto à de um bico de Bünsen até o amolecimento. Em seguida o tubo era esticado até o comprimento de 40 cm. Após ser esticado o tubo sofria redução do diâmetro externo, espessura e diâmetro interno: 220 μm , 20 μm e 180 μm respectivamente. A região esticada era submetida novamente à chama, agora com 2 mm de diâmetro, para formar uma constrição a ser rompida por tração a frio após remover a exposição a chama. Pessoa (op cit) revela que a metodologia proposta gera uma taxa de descarte de aproximadamente 95%.

Pessoa em 1999 apresentou a primeira versão de software para controle automático da posição do menisco em medidas de turgescência realizadas em Sonda Termoelástica (ST). O software codificado com a ferramenta *C++Builder*⁵ recebeu o nome de KDL-turgor. As funções desempenhadas pelo programa KDL-turgor eram: reconhecimento do padrão de imagem do menisco de óleo no interior do capilar e controle da posição do menisco para medição de turgescência, baseado no método isovolumétrico. O algoritmo de implementação do software KDL-turgor foi realizado conforme os passos a seguir:

1. Reconhecimento e gravação da posição inicial do menisco imediatamente antes da punção.
2. Após a punção, o volume de óleo no interior do capilar sofria contração volumétrica por compressão e o menisco ocupava nova posição. Neste momento o operador acionava o comando para que o menisco retornasse à posição gravada em 1.
3. Para que o menisco retornasse à posição inicial, o programa calculava a variação de volume necessária. Em seguida a tensão nos terminais do aquecedor era alterada para que houvesse um aumento de temperatura provocando a expansão térmica do óleo. Caso o menisco atingisse uma posição intermediária, anterior à posição inicial, a etapa 3 era repetida em laço.
4. Se ultrapassasse a posição inicial, o programa registrava a potência correspondente, que se tornava um limite superior. A estimativa de variação de

⁵ C++Builder – É um ambiente de desenvolvimento integrado para a escrita de programas na linguagem C++ (SWART et al, 2002).

volume era refeita semelhantemente à etapa 3, porém, para redução de volume através da redução de potência. Caso o menisco ultrapassasse a posição inicial de referência, a potência correspondente se tornava um limite inferior.

5. Os passos 3 e 4 eram repetidos até que o menisco atingisse a posição gravada em 1. Quando isto ocorria, o valor do turgor podia ser estimado pela variação de potência necessária para manutenção da posição do menisco.

O controle proposto por Pessoa (1999) não foi baseado no uso de controladores do tipo proporcional, integrativo ou derivativo (OGATA, 2003).

Em 2005, Bertucci Neto retoma o assunto e apresenta uma nova experiência para controle automático da posição do menisco em ST. Em sua obra o autor descreve o método de controle empregado baseado na aplicação de malha fechada com retroalimentação de um controlador PID. Na abordagem definida pelo autor, a detecção da posição do menisco, dada em pixels, também foi realizada através do reconhecimento do padrão de imagem do menisco previamente selecionado. A atualização da posição era realizada a cada período de 70 ms. Bertucci Neto (2005) realizou o cálculo do turgor de forma análoga à Pessoa (1999), porém, o software proposto foi desenvolvido em ambiente *LabView*, versão 6i.

Nas experiências relatadas a realização da medida direta da pressão de turgor em células vegetais foi comprometida pelas limitações construtivas do equipamento. Neste trabalho, a partir da implementação de alterações do projeto mecânico da ST, foi realizada uma nova tentativa de controle da posição do menisco em medições automáticas do turgor em células de cebola (*Allium cepa L.*).

2. Revisão Bibliográfica

2.1 Relações hídricas em plantas

O movimento da água no interior dos tecidos vegetais é um processo físico, inteiramente passivo, que não requer a utilização de energia metabólica. Neste processo a água desloca-se em resposta a diferenças de energia potencial. Nas células vegetais, ou entre as células vegetais e o seu meio envolvente, a água flui de áreas de potencial hídrico mais elevado para áreas de potencial hídrico mais baixo. Se não existirem barreiras, o movimento da água só acabará quando se atingir o equilíbrio termodinâmico. Isto significa que a direção do movimento da água num sistema é determinada por gradientes de potencial hídrico (CRUZ, 2006).

O potencial hídrico na planta (Ψ_w) é formado por um componente que depende do potencial da pressão hidrostática (Ψ_P), um que depende das propriedades coligativas da água (Ψ_S) e um componente gravitacional. Este último corresponde à força que a coluna de água exerce na secção transversal e depende, portanto da altura da coluna, em uma razão de 0.1MPa para cada 10 m.c.a.. Em plantas com apenas alguns centímetros de altura, ou órgãos vegetais de pequeno porte, normalmente esta componente pode ser desconsiderada. A equação 01 representa tal condição (PESSOA, 2006).

$$\Psi_w = \Psi_S + \Psi_P \quad (01)$$

O componente hidrostático se manifesta de formas diferentes de acordo com a estrutura física do material. No simplasma de uma célula, por exemplo, ele corresponde à pressão que a água exerce nas paredes elásticas. Nesta, por sua vez ele corresponde à tensão que o corpo de água sofre quando a parede porosa é forçada a contrair-se devido à redução do seu teor de água (CALBO e PESSOA, 1994).

O potencial total da água (Ψ_w) e seus componentes (Ψ_P e Ψ_S) são o resultado da aplicação da termodinâmica na descrição do estado energético da água na planta (SLATYER, 1967). Em uma revisão bastante extensa Hisao (1973) compilou os trabalhos de vários autores com diferentes espécies relacionando os níveis do potencial da água com aspectos fisiológicos. Observaram que nas espécies estudadas um decréscimo de -0.1MPa no potencial

total da raiz era suficiente para reduzir o crescimento celular, afetar a síntese de proteínas e as atividades enzimáticas. Uma redução de -0.3 a -0.8 MPa levou ao fechamento de estômatos, crescimento no nível de ácido abscísico (ABA), decréscimo na produção de citocinina, redução das taxas de respiração e fotossíntese, entre outros efeitos.

Os componentes do potencial da água na planta são fundamentais nos ensaios envolvendo relações entre solo, água e planta, mas a disponibilidade instrumental para mensurá-los tem sido objeto de trabalho e limitação em várias pesquisas. Slavik (1974) mencionou o interesse e dificuldades relacionadas aos estudos das relações hídricas em um livro que procurou compilar o desenvolvimento instrumental disponível até então. Naquela época praticamente inexistiam relatos sobre as sondas de pressão.

2.2 Sondas de pressão

A medição direta e contínua da pressão hidrostática no interior da célula ou turgor celular (P), módulo de elasticidade da parede celular (ϵ) e condutividade hidráulica da membrana celular (L_p) é de extrema importância para o estudo das relações água planta e desenvolvimento de modelos de transporte de água em tecidos vegetais. Um importante passo nesta direção foi o desenvolvimento da sonda de pressão (ZIMMERMANN et al, 1969), aplicada na determinação do turgor celular de algas marinhas como a *Valonia utricularis* (ZIMMERMANN et al, 1976) e em grandes células de plantas superiores (STEUDLE et al, 1977). A primeira versão do instrumento foi construída utilizando-se um micro-capilar, com ponta de 100 – 200 μm de diâmetro, conectado a uma câmara de pressão, conforme Figura 2. Ambos, capilar e câmara, foram preenchidos com óleo de silicone. Ao penetrar a célula com a ponta do micro-capilar, era possível visualizar a posição do menisco formado pela separação de fases entre óleo e citoplasma. Um fuso atuava sobre uma membrana polimérica alterando o volume interno do conjunto, conseqüentemente a pressão necessária para o controle da posição do menisco pôde ser medida através de um transdutor de pressão. Entretanto a aplicação deste equipamento era limitada pela relação entre tamanho da célula e o tamanho do equipamento. Meinder e Edwards (1975), na tentativa de medir o turgor em células-guarda estomáticas, conseguiram apenas provocar suas aberturas e fechamentos, não

sendo capazes de registrar os valores de pressão aplicados, provavelmente pela incompatibilidade do tamanho do equipamento com a compressibilidade do fluido sensor utilizado (HUSKEN et al, 1978).

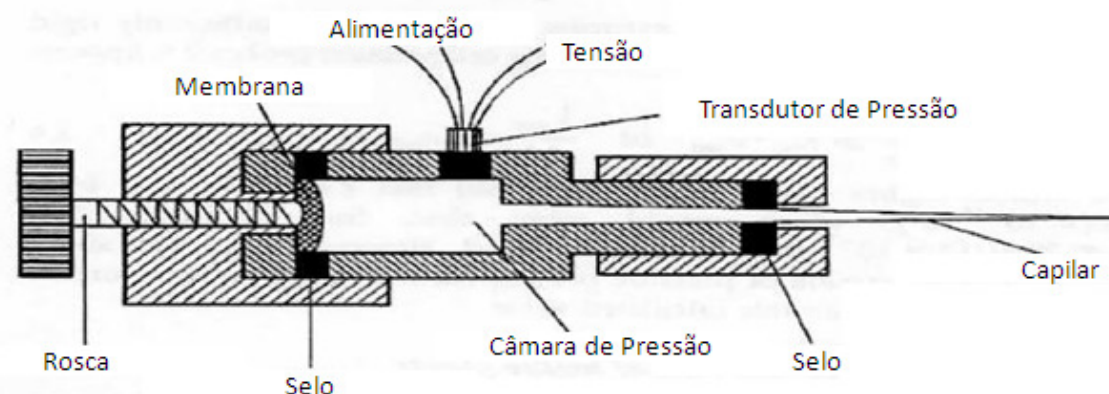


Figura 2: Primeira versão da sonda de pressão construída para medição de turgor em células gigantes de algas. Fonte: STEUDLE, 1993.

A segunda versão da sonda apresentada em 1971 por Steudle e Zimmermann, foi construída com um volume interno menor e sistema de rosca micrométrica graduada, conforme Figura 3.

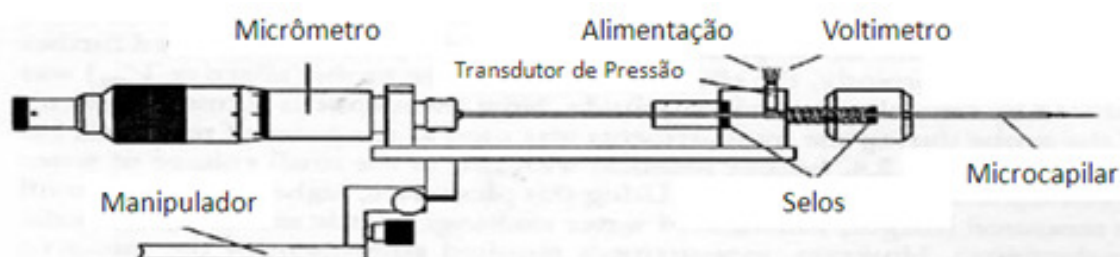


Figura 3: Segunda versão da sonda utilizada em células grandes e equipada com sistema micrométrico graduado para controle da variação de volume aplicada. Fonte: STEUDLE, 1993.

Tal sistema permitiu a indução de pequenas variações no volume celular (ΔV) e a medição da variação do turgor (ΔP) utilizados para o cálculo do coeficiente de elasticidade da parede celular (ε) a partir do volume inicial da célula (V_0) conforme equação 02.

$$\varepsilon = V_0 \cdot \frac{dP}{dV} \approx V_0 \cdot \frac{\Delta P}{\Delta V} \quad (02)$$

Entretanto, as alterações não foram suficientes para possibilitar a realização de medidas em células de plantas superiores. Posteriormente, detectou-se que o fluido sensor utilizado apresentava coeficiente de elasticidade (K_{oil}) inadequado para a realização das medidas (HUSKEN et al, 1978). Para contornar esta situação, a rigidez do sistema de medição foi determinada em função da rigidez celular. Desta forma pôde ser expressa pela comparação entre a relação volume celular (V_{cel}) e módulo de elasticidade da parede celular com o produto do coeficiente de elasticidade do óleo (K_{oil}) pelo volume interno do aparelho (V_{app}) expresso pela equação 03 (STEUDLE,1993).

$$\frac{V_{cel}}{\varepsilon} \gg K_{oil} \cdot V_{app} \quad (03)$$

Em 1978, foi desenvolvida a terceira versão da sonda de pressão, capaz de realizar medidas em células de plantas superiores com diâmetro de até 20 μm (HUSKEN *et al*, 1978). O equipamento também se baseava no princípio da compressibilidade do fluido sensor, já o ajuste da posição do menisco óleo/citoplasma era feito automaticamente através do acionamento de um motor acoplado a uma rosca micrométrica responsável pela movimentação do êmbolo posicionador. O sinal de retroalimentação do motor foi obtido pelo monitoramento de um sistema resistivo formado por um fio de prata com diâmetro de 1 μm introduzido no interior do capilar e um eletrodo de referência imerso em uma solução em contato com o tecido. Verificou-se que a resistência elétrica entre a referência e o fio de prata aumentava sensivelmente após a total cobertura do fio pelo óleo. Anterior a medição, o menisco óleo/citoplasma era posicionado sobre a ponta do fio de prata e o valor da resistência medido. Após o puncionamento da célula, o motor era acionado a fim de devolver o menisco à posição inicial definida pelo valor de resistência lido. Em seguida, o valor de pressão era lido pelo manômetro acoplado ao sistema, conforme Figura 4.

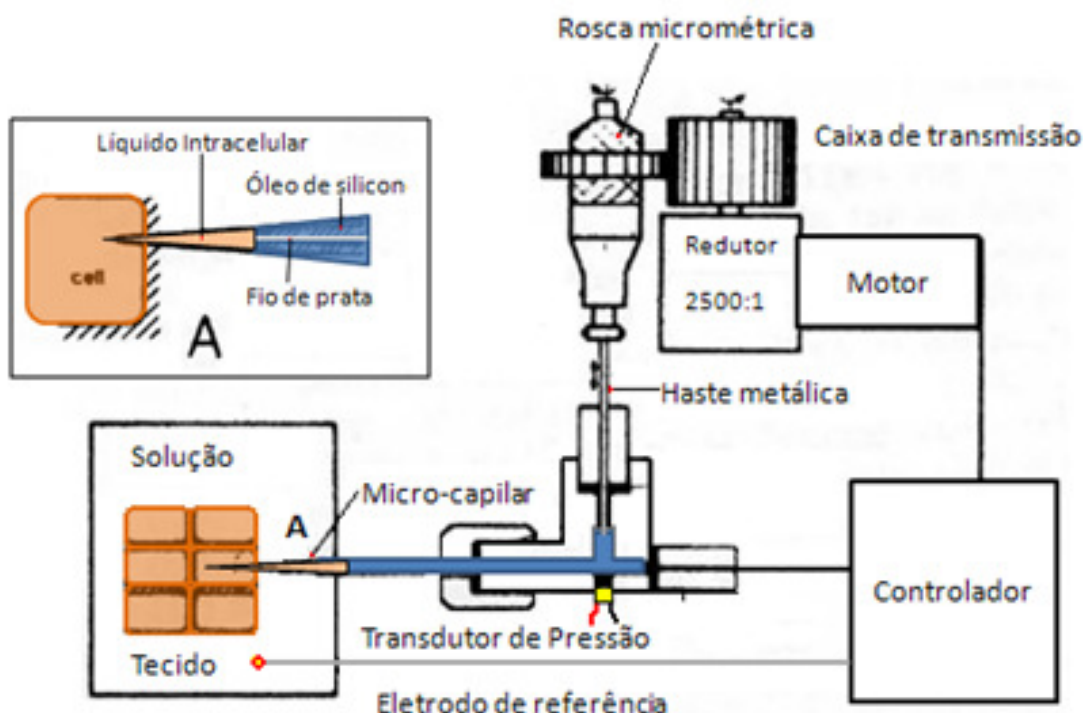


Figura 4: Terceira versão da sonda de pressão utilizada para medição do turgor em células de plantas superiores. Fonte:HUSKEN et al, 1978.

Em 1986, foi proposto um novo sistema de detecção da posição do menisco, através da análise da imagem fornecida por uma câmera acoplada a um estereomicroscópio (CROSGROVE e DURANCHKO, 1986). Neste sistema era possível analisar a linha de centro do capilar e quantificar a intensidade do brilho ao longo da imagem. Devido ao contraste entre menisco e óleo, foi possível verificar uma alteração no valor do brilho, definindo assim o ponto de separação de fases entre citoplasma e fluido sensor. Este sistema permitiu a medição da pressão de turgor em células de plantas intactas, não havendo mais a necessidade de colocar parte do tecido vegetal a ser estudado, imerso em solução para realização da medida.

Outra versão do sistema de detecção do menisco foi proposta por Büchner e colaboradores (1987). Neste sistema a interface óleo/citoplasma pôde ser detectada pela colocação de um conjunto de oito fototransistores colocados sobre a imagem captada pelo

microscópio. Além da detecção da posição do menisco, também foi possível determinar sua velocidade e sentido de deslocamento.

Por mais de duas décadas, não foram identificados avanços significativos relacionados à construção e controle das sondas de pressão. Em 2009, Wong e colaboradores, apresentaram uma técnica de detecção da posição, velocidade e sentido de deslocamento do menisco utilizando redes neurais artificiais baseadas no conceito “radial bases function” (RBF) (HAYKIN, 1999) que permitiu a detecção e monitoramento do menisco em tempo real (30 Hz). Porém, os autores não apresentaram resultado prático com medições diretas em células vegetais para validação do sistema proposto.

2.3 Sonda termoelástica

A montagem da ST consiste de uma fonte de calor resistiva em contato com um regulador térmico, um capilar de vidro parcialmente cheio com o fluido sensor a base de óleo mineral, um estereoscópio e uma câmera de vídeo acoplada (PESSOA et al., 1999; BERTUCCI NETO *et al.*, 1998). O fluido transdutor é um óleo mineral corado com Sudan Black, introduzido em um capilar cilíndrico de vidro com dimensões aproximadas de 200 mm (comprimento) e 0.22 mm (diâmetro externo) selado em uma das extremidades.

O processo de medida da pressão de turgor apresentado por Calbo e Pessoa (1999) consiste na análise da posição do menisco no interior do capilar de paredes rígidas. Ao se penetrar a célula com a ponta do capilar, há o aumento de pressão (dP) implicando em uma variação isotérmica do volume inicial ($V_{0,oil}$) do óleo contido no interior do capilar implicando na alteração da posição do menisco. Tal variação pode ser expressa pela equação 04.

$$\frac{dV}{V_{0,oil}} = -K_{oil} \cdot dP \quad (04)$$

A segunda etapa do processo de medição consiste em retornar o menisco para sua posição inicial pelo incremento da temperatura (dT) do fluido sensor em função do parâmetro de expansibilidade térmica (α_{oil}) em um processo isobárico, conforme equação 05.

$$\frac{dV}{V_{0_oil}} = \alpha_{oil} \cdot dT \quad (05)$$

Após o retorno do menisco a sua posição inicial, pode-se considerar que a relação $\frac{dV}{V_{0_oil}} = 0$, permitindo correlacionar as equações 04 e 05 para obtenção da equação 06:

$$dP = \left(\frac{\alpha_{oil}}{K_{oil}} \right) \cdot dT \quad (06)$$

Mostrando que a alteração da temperatura do fluido sensor a volume constante implica em uma variação de pressão, tornando possível a determinação da pressão de turgor.

2.4 A importância do monitoramento automático em ambiente agrícola protegido para produção ou pesquisa

Com o processo de modernização, o setor agrícola passou a buscar em ambientes agrícolas protegidos uma possibilidade de melhoria para o desempenho produtivo (STEIDLE NETO, 2003). Algumas vantagens do cultivo em ambientes protegidos foram citadas por Vida et al. (2004): aumento de produtividade, colheita na entressafra, precocidade da colheita, maior qualidade dos produtos, melhor controle das condições ambientais, controle mais eficiente de pragas e doenças, melhor aproveitamento no uso dos recursos, minimização do risco e maximização da competitividade mercadológica do produtor. Beltrão et al. (2002) consideram que uma parte significativa da pesquisa agrícola mundial é feita em experimentos sob cultivo protegido.

Segundo Curtis (1983), este ambiente pode ser definido como a soma das variáveis físicas, químicas, biológicas e climáticas circundantes. De acordo com Fontes (1999) e Beltrão et al. (2002), o cultivo em ambiente protegido possibilita determinado controle das condições edafoclimáticas, tais como: temperatura, umidade do ar, radiação luminosa, solo, vento e composição atmosférica, e implica na utilização de instrumentação e dispositivos de controle apropriados (CANSADO, 2003).

O grande avanço na área da informática permitiu o desenvolvimento de soluções inovadoras para aplicação em ambientes protegidos. Exemplo disto é o desenvolvimento de sistemas com controle baseados em inteligência artificial, novos aplicativos, interfaces homem-máquina, transmissão de dados a distância, algoritmos de controle baseados em modelos matemáticos que simulem o sistema e o desenvolvimento de novos sensores (TERUEL, 2010).

A CropDesign (CROPDESIGN, 2009), empresa do grupo Basf, é um exemplo do poder da automação inteligente para obtenção de dados e geração de valor. Situada em Gent, Bélgica, possui uma infraestrutura com sistemas semi-inteligentes para medida automática das características de plantas jovens em ambiente protegido. Os dados são enviados para outra empresa do mesmo grupo, a Metanomics (METANOMICS, 2009), especializada em bioinformática. Juntas elas conseguem avaliar por ano, simultaneamente, o efeito de milhares de mutações (da ordem de 50 mil) genéticas induzidas. No Brasil, não se dispõe de um sistema com eficiência parecida para a geração de novas variedades.

Buscando alinhamento com o contexto descrito foi trabalhado o aprimoramento do equipamento e sensor para medida de turgor celular. Paralelamente foi desenvolvido um software para medição automática desta variável em células de plantas superiores através da utilização da sonda termoelástica.

3. Justificativa

Além das sondas de pressão citadas, outra alternativa interessante para medidas de turgescência em células vegetais, é a Sonda Termoelástica[®] (ST), desenvolvida na Embrapa Instrumentação, São Carlos-SP, (CALBO; PESSOA, 1999; PESSOA, 1999; PESSOA e CALBO 2004), que se baseia nas propriedades termoelásticas dos fluidos, na compressibilidade (κ_{oil}) e na expansibilidade térmica (α) (PESSOA e CALBO, 1997).

Neste tipo de sonda, a determinação do turgor ocorre através medição da quantidade de energia fornecida ao sensor termoelástico para manutenção da posição do menisco formado entre o óleo no interior do capilar e o citoplasma. Entretanto, a versão atual da ST apresenta limitações que impedem a detecção e acompanhamento automático da posição do menisco em tempo real, limitando a aplicabilidade do equipamento e o desenvolvimento de metodologias. A atual Sonda Termoelástica possui componentes relativamente lentos para uma automação adequada, apesar de alguns avanços já terem sido obtidos no que diz respeito ao processo de automação do controle da posição do menisco no interior do capilar utilizando sinal de vídeo (BERTUCCI NETO, 2005).

A nova versão, proposta neste projeto, pretende superar as limitações mencionadas e implementar a utilização desta nova tecnologia para medição de turgor, visando contribuir com os questionamentos acerca das alterações fisiológicas, em escala celular, de órgãos vegetais.

4. Objetivos

4.1 Objetivo Geral

Melhorar a usabilidade do protótipo da Sonda Termoelástica.

4.2 Objetivos Específicos

- Projetar e montar sistema para manufatura dos sensores termoelásticos para medida de turgescência;
- Projetar e montar uma plataforma mecânica adequada à automação;
- Projetar e codificar o algoritmo de controle para medida automática de turgor;
- Planejar e codificar a interface com o usuário;
- Monitorar a pressão de turgor em células de cebola (*Allium cepa L.*).

5. Materiais e métodos

As atividades descritas neste tópico foram realizadas no Laboratório de Inovação em Pós-colheita (LIPCo) usando-se a infra-estrutura da EMBRAPA Instrumentação.

5.1 Projeto Mecânico e construção da Sonda Termoelástica

Para definição das informações necessárias ao desenvolvimento de um novo projeto mecânico para a Sonda Termoelástica foi aplicada a técnica “Especificações para Projeto de Produto”⁶ descrita por Stuart Pugh em 1990 e adaptada por Camarotto (2005). A técnica consiste em identificar os principais fatores que influenciam a qualidade da montagem mecânica como desempenho, manutenção, manufatura, dimensão e peso. Em seguida foram redigidas perguntas específicas dentro do escopo de cada fator. Por fim as questões foram respondidas, fornecendo as informações norteadoras do projeto. A Tabela 1 contém a síntese dessa técnica aplicada ao desenvolvimento do projeto mecânico da Sonda Termoelástica.

Tabela 1: Quadro de elementos do PDS para desenvolvimento do projeto conceitual de uma Sonda Termoelástica. Adaptado de (CAMAROTO, 2005).

Fator	Questões típicas	Comentários
Ambiente	<ul style="list-style-type: none"> - Onde será utilizado? - Há necessidade de controle de térmico? - Há necessidade de controlar a umidade? 	- O equipamento será utilizado no interior de laboratório climatizado, sem controle de umidade;
Dimensões	<ul style="list-style-type: none"> - Deve ser portátil? - Qual a dimensão máxima aceitável? 	<ul style="list-style-type: none"> - Não há necessidade de ser portátil podendo ser acomodado sobre bancada; - Deve ocupar área máxima de 3000 cm² sobre plataforma de (65 cm x 55 cm) com altura máxima permitida de 40 cm;
Peso	<ul style="list-style-type: none"> - Qual o peso máximo permitido? 	- Deve ser movimentado por uma pessoa. Peso máximo fixado em 30 kg;
Transporte	<ul style="list-style-type: none"> - Deve possibilitar deslocamento? 	- Deslocamento do equipamento após a montagem não é aconselhável;
Manutenção	<ul style="list-style-type: none"> - Qual a frequência de manutenção? 	- Mínima;

⁶ Especificações para projeto de produto – Correspondente em inglês: *Product Design Specification* (PDS).

Aparência	<ul style="list-style-type: none"> - Qual cor será utilizada? - Quais as observações quanto ao acabamento? 	<ul style="list-style-type: none"> - Devem ser utilizadas cores neutras; - Acabamento superficial por usinagem, pintura ou revestimento com material isolante (Térmico e elétrico);
Partes	<ul style="list-style-type: none"> - Quantas partes deve conter o equipamento? 	<ul style="list-style-type: none"> - Carro porta amostra; - Carro porta sensor; - Sistema óptico; - Base principal;
Montagem	<ul style="list-style-type: none"> - Quais as características básicas de montagem? 	<ul style="list-style-type: none"> - O equipamento deve ser facilmente montado e desmontado; - Deve apresentar modularidade;
Desempenho	<ul style="list-style-type: none"> - Quantos tipos de deslocamento deve possuir? - Qual a velocidade de ajuste para medições? 	<ul style="list-style-type: none"> - Carro porta sensor: deslocamento em "X", "Y" e "Z"; - Carro porta amostra: deslocamento em "X", "Y" e "Z" e rotacional em torno de "Y"; - Sistema óptico: Apenas ao longo de "Z"; - Base principal: Fixa; - Velocidade de ajuste para execução das medições de turgescência mais baixa possível (recomendado 5 minutos);
Materiais	<ul style="list-style-type: none"> - Quais materiais devem ser utilizados? 	<ul style="list-style-type: none"> - Materiais leves e com boa resistência mecânica; - Materiais de fácil usinagem (agilizar o processo de fabricação); - Bom condutor de calor para o porta sensor;
Aspectos ergonômicos	<ul style="list-style-type: none"> - Quais as características de manuseio durante a troca de amostras e sensores? - Quais as características de posicionamento das partes móveis? 	<ul style="list-style-type: none"> - Deve possuir peças com encaixe rápido para facilitar a troca de amostras e sensores; - Deve permitir o livre acesso a todos os botões de manipulação;
Segurança	<ul style="list-style-type: none"> - Quais riscos oferece? 	<ul style="list-style-type: none"> - Deve oferecer o menor risco possível à saúde do usuário; - As peças de maior peso devem ser fixadas com parafusos;
Valor	<ul style="list-style-type: none"> - Qual valor disponível para o projeto? 	<ul style="list-style-type: none"> - Restrições orçamentárias; - Realizar projeto com o mínimo de gastos;
Usuário	<ul style="list-style-type: none"> - Que tipo de usuário entrará em contato com o produto? 	<ul style="list-style-type: none"> - Público acadêmico.
Tempo	<ul style="list-style-type: none"> - Quanto tempo disponível entre concepção e utilização? 	<ul style="list-style-type: none"> - 12 meses
Teste	<ul style="list-style-type: none"> - Como serão realizados? 	<ul style="list-style-type: none"> - Desempenho e aceitação do protótipo, medidos após aplicação nos projetos de colaboradores.

Os desenhos mecânicos foram realizados em ambiente 3D do software SolidEdge versão 20. O projeto mecânico foi dividido em quatro partes:

- 5.1.1. Base principal;
- 5.1.2. Carro porta amostras;
- 5.1.3. Carro porta sensor;
- 5.1.4. Sistema óptico;

5.1.1 Base principal

A base principal serviu de apoio para as demais partes do conjunto. Nesta montagem uma placa de poliacetal de 10 mm foi colocada sobre um suporte de metalon (30 mm x 30 mm). A função do suporte foi garantir a rigidez do sistema. Sobre a placa de poliacetal (1) foram usinadas furações e colocados os elementos de fixação e guia posicionadora (trilho) em formato de “rabo de andorinha” para garantir uma montagem ágil e precisa das demais partes. Guias para deslocamento linear em formato de “rabo de andorinha” são amplamente utilizadas em tornos mecânicos e fresadoras, garantindo precisão de até 5 μm (FERRARESI, 2003).

A base foi totalmente apoiada sobre quatro ventosas com a finalidade de fixar o equipamento. Os detalhes de montagem da base principal podem ser observados na Figura 5.

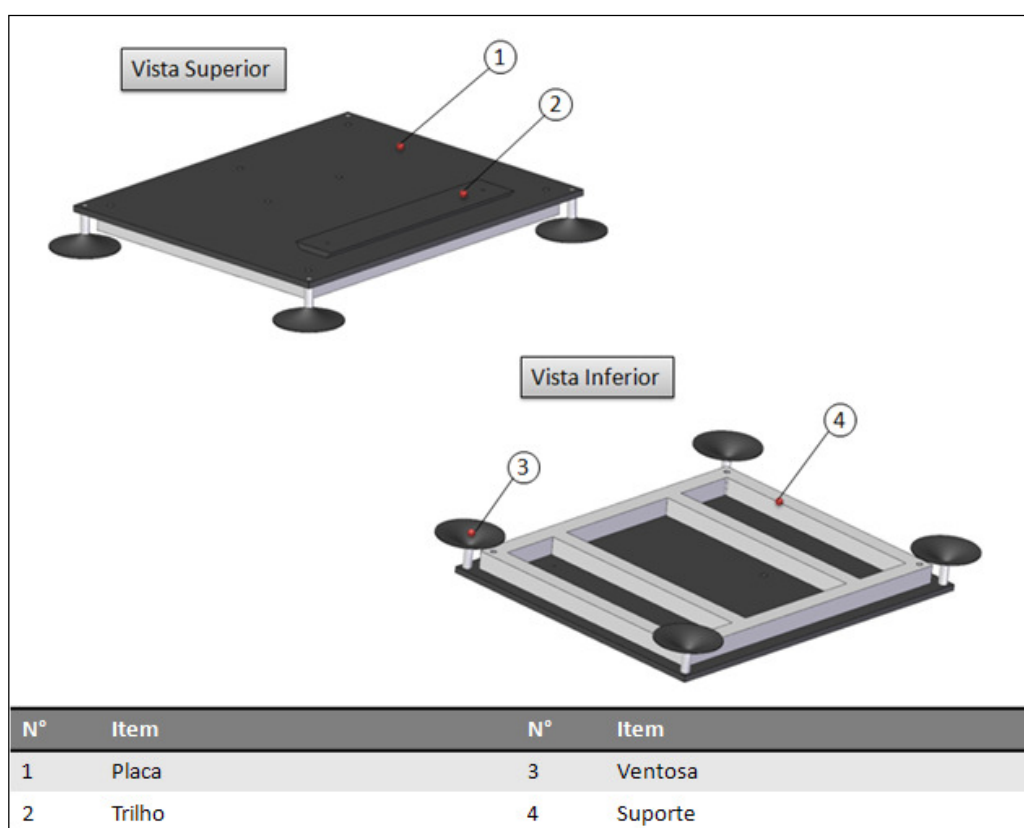


Figura 5: Representação 3D da base principal e lista de peças.

5.1.2 Carro porta amostra

O projeto mecânico do carro porta amostra (CPA) buscou garantir acesso à maior parte da superfície da amostra, seja plana, no caso de folhas, cilíndricas ou esféricas, no caso de frutos e demais órgãos vegetais. Para garantir este acesso abrangente, foram definidos 4 graus de liberdade para posicionamento da amostra. Deslocamento linear em X, Y, Z e ao redor de Y (θ_y). Para deslocamento em X e Z, foram utilizados dois transladores horizontais da marca Proteu, modelo U-50. O posicionamento vertical em Y foi garantido pelo translador vertical da marca Optron, modelo TZ2-50.15. Já a rotação em θ_y foi realizada pelo minigoniômetro GN1 da marca Optron. Para fixação e posicionamento sobre o trilho da base principal, foram utilizados dois carros C1 da Optron. A Figura 6 ilustra a montagem descrita.

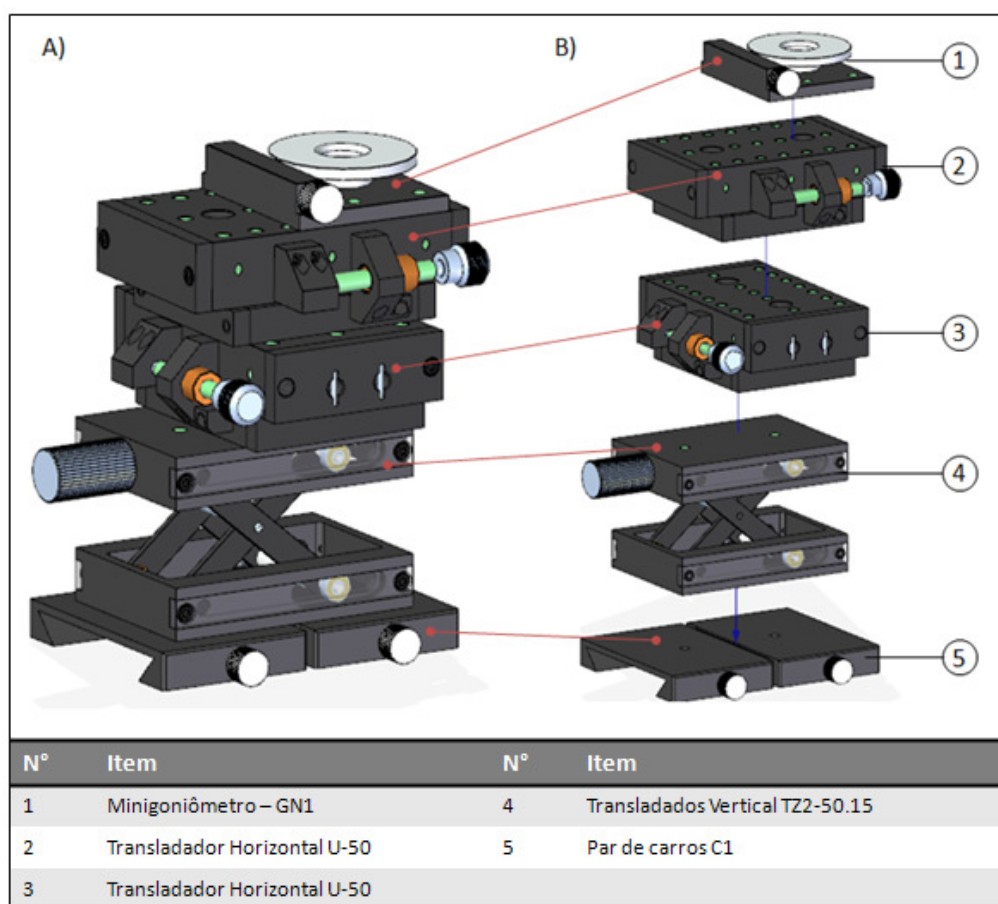


Figura 6: A) Representação 3D da montagem do carro porta amostra; B) Vista explodida do carro porta amostra e lista de peças.

5.1.3 Carro porta sensor

Ao carro porta sensor (CPS) foram atribuídos 3 graus de liberdade através dos deslocamentos lineares em X, Y e Z. Os deslocamentos em X e Z ficaram sob a responsabilidade de dois transladores horizontais U-50 da marca Proteu. Já o posicionamento em Z foi realizado por uma mesa elevadora ME1 da marca Optron, com capacidade para até 5,0 kg (OPTRON, 2010). Para fixação e posicionamento sobre o trilho da base principal, foram utilizados dois carros C1 da Optron. A Figura 7 contém a representação da montagem completa do CPS, formado pelo sistema posicionador e regulador térmico.

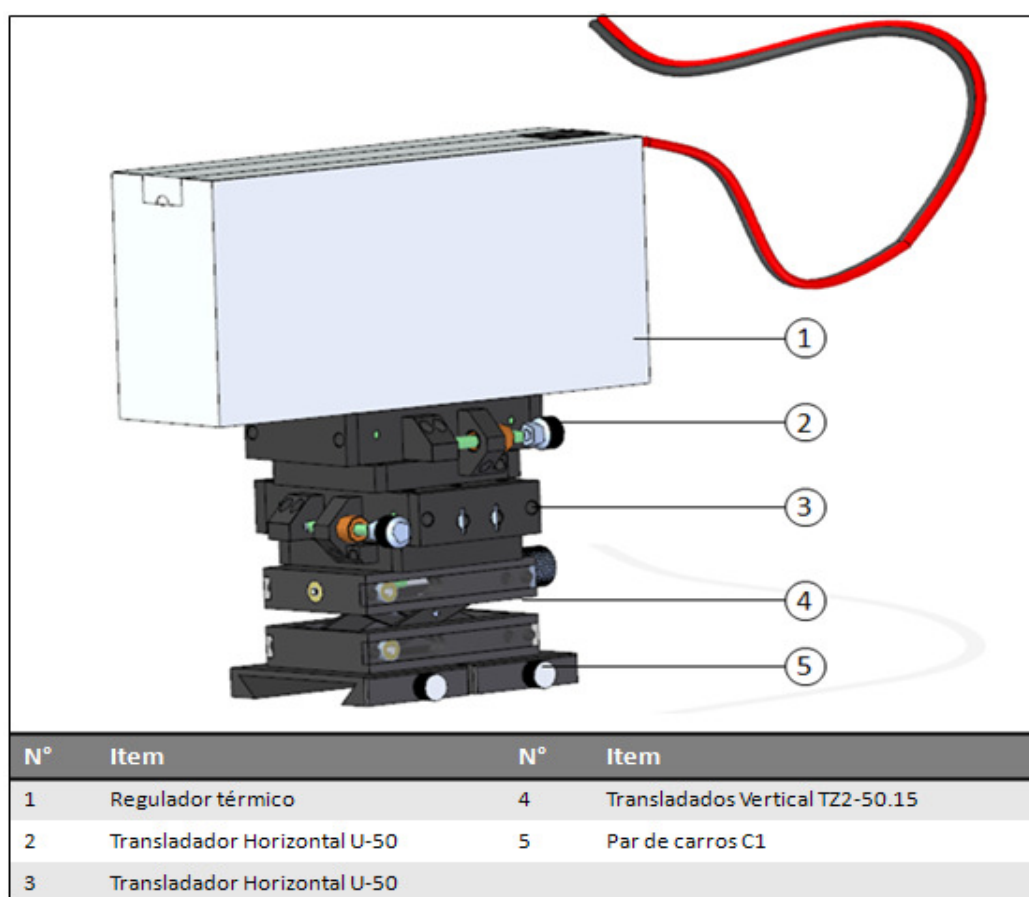


Figura 7: Representação 3D do carro porta sensor e lista de peças.

O regulador térmico foi acoplado sobre o sistema de posicionamento e foi formado por um bloco termorregulador, uma fita resistiva de Ni-Cr(60-20) (0,2 mm x 2mm x 230 mm)

alimentada por uma fonte controladora de tensão e um suporte de fixação para o capilar. Os detalhes construtivos foram representados na Figura 8. Nesta versão da sonda, o bloco termorregulador confeccionado em alumínio AA 1050 substituiu o banho termostático descrito por Pessoa (1999), cuja função é manter a estabilidade térmica durante o período de medição. A substituição foi feita com a finalidade de reduzir o volume do regulador térmico e diminuir sua complexidade construtiva, além de aumentar sua robustez e eliminar a etapa de manutenção do banho térmico (água + gelo).

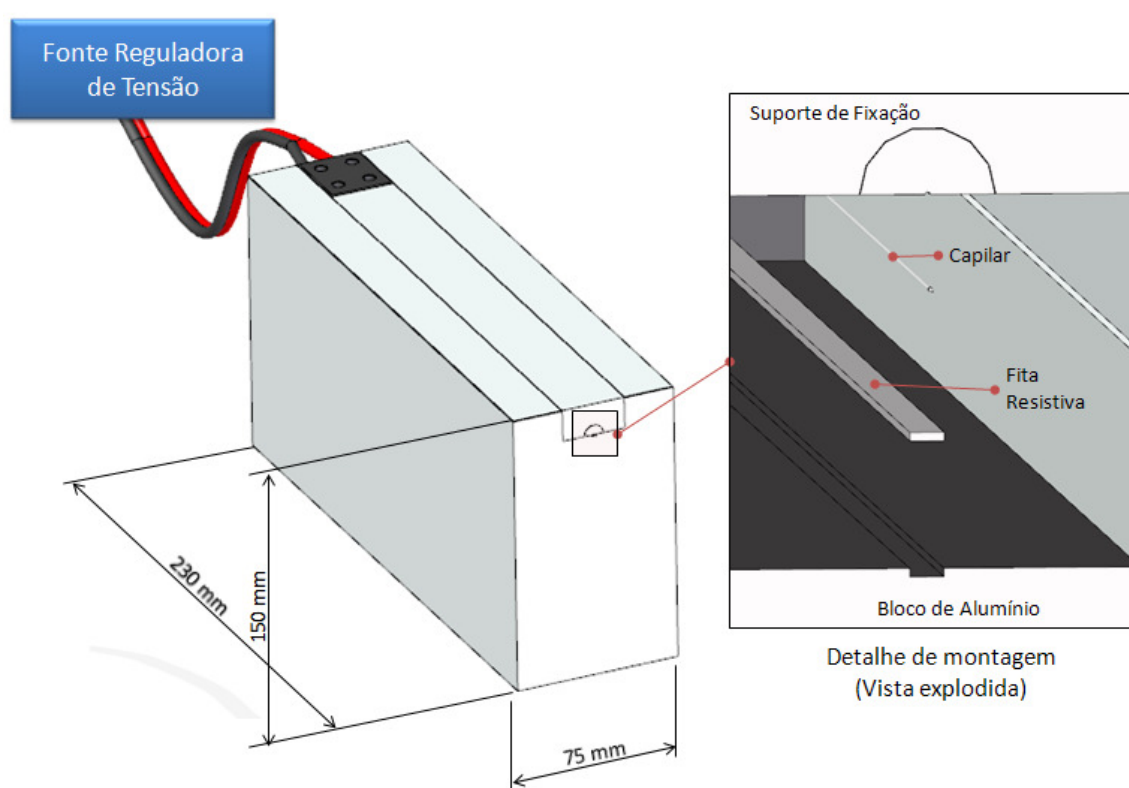


Figura 8: Detalhes construtivos do regulador térmico.

5.1.4 Sistema óptico

Para construção do sistema óptico foi utilizado um estereoscópio da marca Lambda modelo LET-3 com aumento de 100 vezes e a ele foram acoplados uma câmera CCD da marca LG modelo GC-215N/P e uma base para fixação à placa da base principal conforme Figura 9. Após a montagem do sistema óptico e alinhamento do conjunto, o mesmo foi travado, eliminando todos os seus graus de liberdade. Desta forma o posicionamento e focagem da amostra e sensor são feitos pelos deslocamentos do carro porta amostra e do carro porta sensor respectivamente.

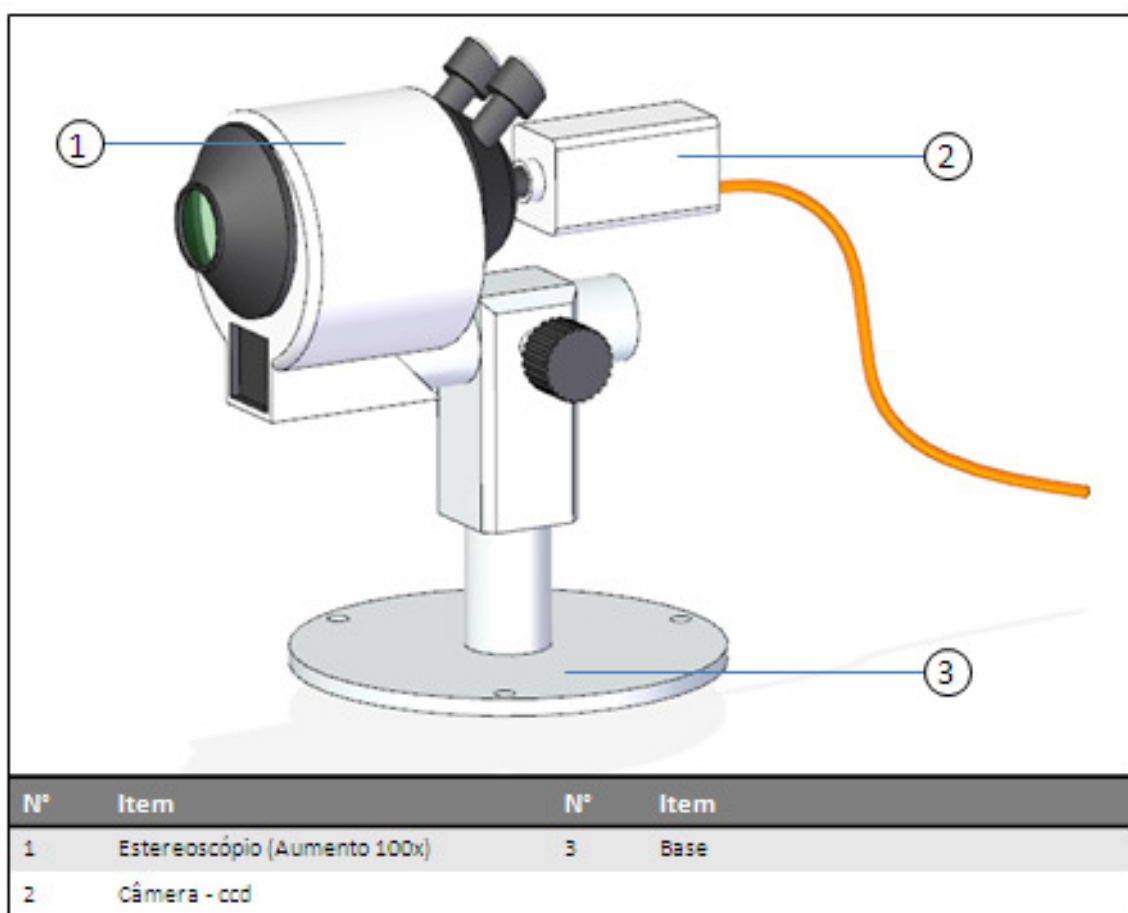


Figura 9: Representação 3D do sistema óptico e lista de peças.

Para iluminação da amostra e sensor foi utilizado um iluminador de fibra óptica.

5.2 Software para medição das características geométricas do sensor

O desenvolvimento dos softwares utilizados neste trabalho foram realizados em LabView 8.2⁷. Para captura de imagens, foram utilizados um sistema formado pela associação de uma câmera CCD da marca LG modelo GC-215N/P, um estereoscópio da marca Lambda modelo LET-3 com aumento de 100 vezes juntamente com uma placa para aquisição de vídeo da National Instruments modelo NI PCI-1411. A placa de vídeo foi instalada em um computador de mesa com processador Intel E8400 e 3 GB de memória RAM. Caso seja de interesse do leitor, os diagramas de blocos desenvolvidos em LabView foram catalogados no apêndice deste trabalho. Os fluxogramas representativos da sequência de eventos

O software para medição das características geométricas do sensor termoelástico recebeu o nome “MED” e seguiu a lógica apresentada pelo fluxograma da Figura 10.

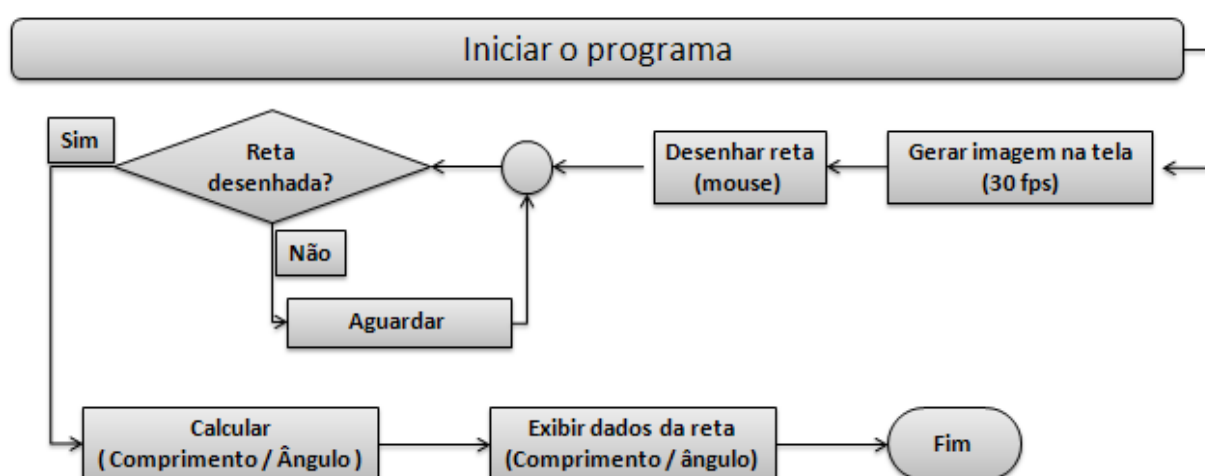


Figura 10: Fluxograma representativo do algoritmo do software para medida das características geométricas do sensor termoelástico.

Com o auxílio do mouse o usuário pôde desenhar sobre a imagem capturada, uma reta. Através da análise cartesiana da linha desenhada foi possível definir as coordenadas iniciais e

⁷ LabView 8.2 – Versão 8.2 do ambiente gráfico para desenvolvimento de softwares.

finais da reta, permitindo calcular seu comprimento em pixels e determinar seu ângulo em graus.

Para calibrar o software foi preciso definir a relação de correspondência entre o pixel e o equivalente em micrometros ($\mu\text{m}/\text{pixel}$). Neste processo foi utilizada uma régua micrométrica da Olympus com subdivisões a cada $10\ \mu\text{m}$. A régua foi fixada em frente ao sistema óptico e em seguida sua imagem foi capturada. Sobre a imagem foram feitos traços com início e fim sobre a escala da régua, conforme Figura 11. Em seguida foi possível determinar o número de pixels horizontais que compunha cada traço tornando possível a definição da relação $\mu\text{m}/\text{pixel}$. Foram realizadas 30 medições e o erro associado foi calculado.

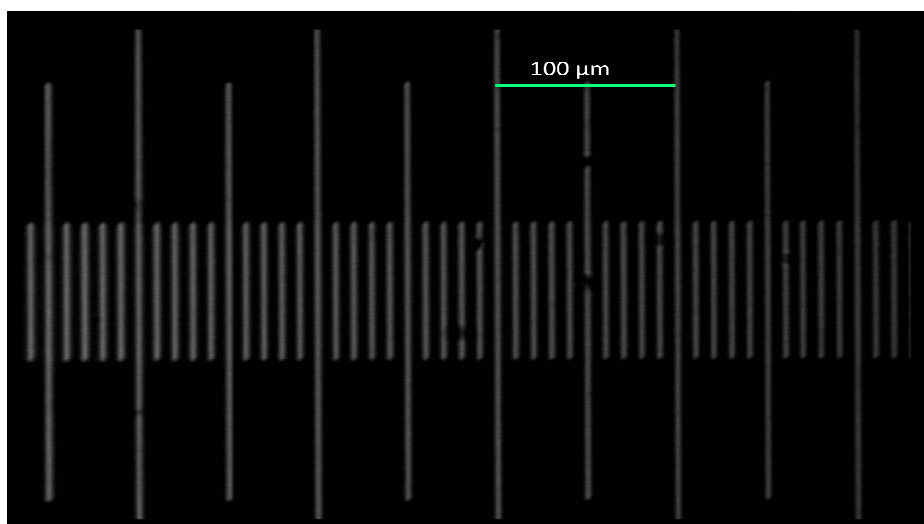


Figura 11: Representação das medições para calibração da relação $\mu\text{m}/\text{pixel}$.

Com auxílio do software “MED” foram medidos o diâmetro interno e externo do corpo do capilar, diâmetro da ponta e conicidade da mesma.

5.3 Manufatura do sensor

Calbo (1997) e Pessoa (1999) fizeram considerações sobre os parâmetros necessários ao bom funcionamento de sensores termoelásticos aplicados à medida de turgor. A Tabela 2 resume tais considerações.

Tabela 2: Parâmetros necessários para obtenção de sensores para medida de turgor celular em ST.

Material do capilar	Hematocapilares sem heparina a base de borosilicato
Diâmetro externo do corpo do capilar	220 μm - 260 μm
Espessura da parede	20 μm - 30 μm
Comprimento do capilar cortado	200 mm
Diâmetro da ponta	5 – 10 μm
Ângulo da ponta	Agudo
Fluido sensor	Óleo de silicone com sudanblack
Vedação	Adesivo a base de cianoacrilato

Para confecção de sensores capazes de atender tais parâmetros, Pessoa (1999) classificou o processo como extremamente trabalhoso e de baixo rendimento, apenas 5% das tentativas de manufatura eram concluídas com êxito.

Na tentativa de minimizar o número de etapas para confecção dos sensores, foi verificado junto a fabricantes de micro-tubos (ACCU-GLASS LLC, 2009; BLW-BIOLABWARE, 2008), se possuíam em catálogo micro-tubos semelhantes ao sensor utilizado. Porém, as características como diâmetro externo, diâmetro interno e comprimento foram todas incompatíveis.

O aprimoramento do método de obtenção de sensores para ST proposto por Calbo (1997) e Pessoa (1999), foi realizado conforme as etapas:

5.3.1 Esticamento;

5.3.2 Obtenção da ponta;

5.3.3 Ajuste da ponta;

5.3.4 Enchimento;

5.3.5 Vedação;

Apenas para efeito de padronização da nomenclatura, o termo “capilar” foi utilizado nos tópicos seguintes como referência ao sensor da ST em processo de fabricação.

5.3.1 Esticamento

O esticamento caracteriza a primeira etapa do processo de obtenção dos sensores. Nesta etapa foram utilizados tubos capilares sem heparina da marca Perfecta confeccionados em boro-silicato. As características dimensionais descritas pelo fabricante são: diâmetro externo de 1,5 mm, diâmetro interno de 1,0 mm e comprimento de 70 mm.

Para obtenção dos sensores, os capilares tiveram suas áreas centrais expostas à chama de um bico de bunsen por um período aproximado de 5 segundos. Durante a exposição à chama, os capilares foram rotacionados com a finalidade de homogeneizar a transferência de calor. Em seguida foram esticados manualmente até o comprimento aproximado de 40 cm (PESSOA, 1999; BERTUCCI NETO, 2005). Um anteparo foi utilizado como limitador de movimento na tentativa de garantir maior repetibilidade. A Figura 12 ilustra o procedimento.

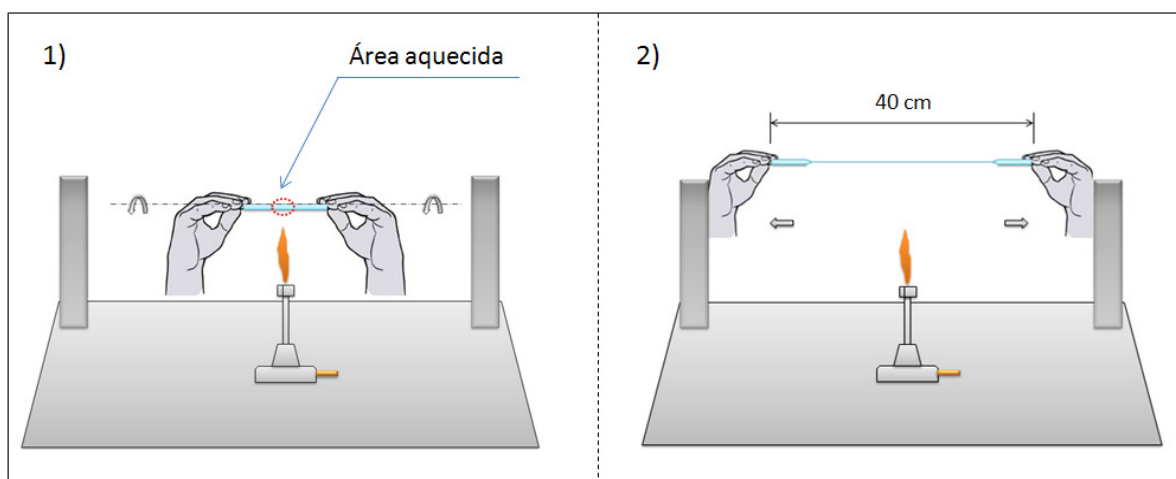


Figura 12: Representação da seqüência de ações para obtenção do capilar: 1- Aquecimento, 2- Esticamento.

Após serem esticados os capilares tiveram seus diâmetros externos medidos com paquímetro digital da marca Mitutoyo, modelo 500-143B. A medição foi realizada em 3 pontos consecutivos a cada 100 mm e calculada a média. Aqueles que apresentaram diâmetro externo médio fora do intervalo definido na Tabela 2 foram descartados. Para avaliação desta etapa foram esticados 20 capilares sem o auxílio de anteparo e 20 capilares com auxílio do anteparo.

5.3.2 Obtenção da ponta

A ponta do capilar é a parte mais delicada do sensor, pois seu diâmetro externo deve ser suficientemente pequeno para penetrar a parede celular sem comprometer significativamente sua estrutura, além de garantir total vedação entre a parede celular e a parte externa do capilar, evitando vazamentos que comprometeriam a qualidade da medida (PESSOA, 1999).

Para a manufatura da ponta do sensor foi projetado e construído um *puller*. Para realização dos desenhos mecânicos foi utilizado o ambiente 3D do software SolidEdge versão 20. O *puller* foi fabricado na oficina mecânica da EMBRAPA Instrumentação, conforme Figura 13.

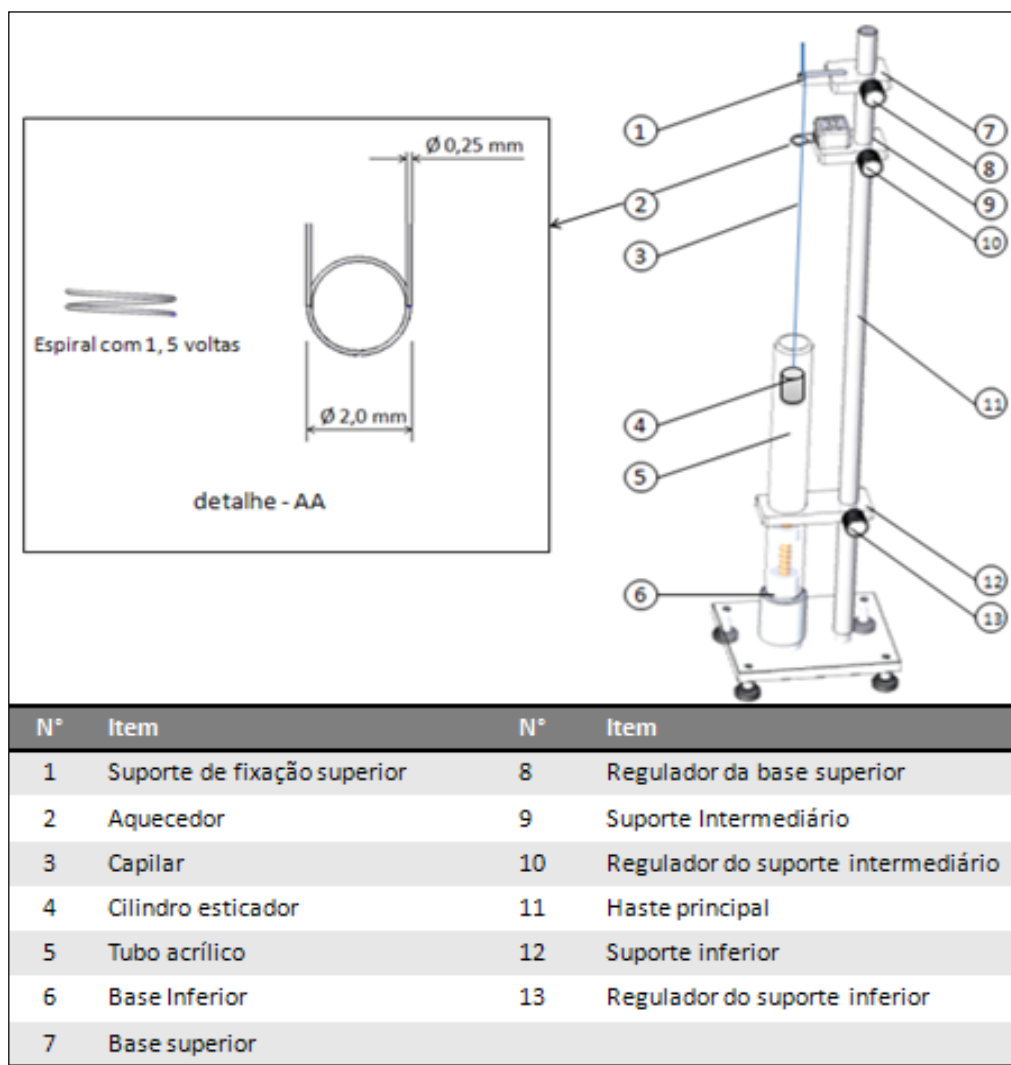


Figura 13: Desenho em 3D do *puller* e lista de peças.

Como pode ser visto na Figura 13, para montagem deste equipamento foi utilizada uma base com pés de borracha (6) e a ela foram acoplados um tubo de acrílico (5), responsável por manter a verticalidade do deslocamento, e a haste de suporte (11) confeccionada em alumínio AA 1050. Foram acoplados à haste principal o suporte inferior (12), o suporte intermediário (9) e a base superior (7), todos com regulagem de altura (13,10,8), respectivamente.

Para confecção da ponta, os capilares, já esticados, foram passados pelo interior do aquecedor (2) e tiveram uma das extremidades presa ao suporte de fixação superior (1). Na outra extremidade foi encaixado um peso de aproximadamente 60 g (4), que em seguida foi

introduzido no interior do tubo de acrílico. A função do cilindro foi de manter os capilares esticados durante o aquecimento.

O aquecedor foi confeccionado em fio de Ni-Cr(60-20) com ($\varnothing = 0,25$ mm), indicado para operações contínuas sujeitas a altas temperaturas (até 1150 °C) em atmosfera oxidante (CHIAVERINI, 1986). As características construtivas do aquecedor são representadas no detalhe “AA” da figura 5. A resistência do aquecedor apresentou valor de 0,8 Ω , medida com multímetro da marca Minipa, modelo ET-2075A. O aquecedor foi conectado a uma fonte de tensão regulável e o valor de tensão na saída foi medido com o mesmo multímetro.

Na tentativa de padronizar a ponta do sensor foram feitos testes variando-se a tensão aplicada ao aquecedor. Os valores de tensão selecionados para análise foram: 2,50 V; 2,75 V e 3,00 V. Foram produzidas 20 pontas para cada valor de tensão e anotados os valores referentes a conicidade β e diâmetro da ponta ($\varnothing_{\text{ponta}}$), conforme Figura 14.



Figura 14: Características geométricas da ponta do sensor termoelástico.

Para medição das características geométricas das pontas formadas foi utilizado o software “MED” descrito no tópico 5.2 deste trabalho.

O ângulo “ α ” representado na Figura 14 foi obtido durante a etapa de ajuste da ponta.

O diâmetro da ponta é um parâmetro desclassificatório para utilização do capilar, já o ângulo representativo da conicidade da ponta, não. Para determinação da relevância do uso de diferentes tensões na obtenção das características citadas, foi utilizada separadamente a técnica estatística ANOVA a um nível de significância de 5% e em seguida foi aplicada aos pares o teste-T também a 5% de significância. Os cálculos foram realizados pelo módulo de análise de dados do programa Excel 2007 da Microsoft.

5.3.3 Ajuste da Ponta

Não houve referência à etapa de ajuste da ponta na bibliografia consultada, porém, na tentativa de padronizar e adequar as pontas dos capilares aos parâmetros da Tabela 2, foi construída uma lixadeira circular conforme a figura 15.

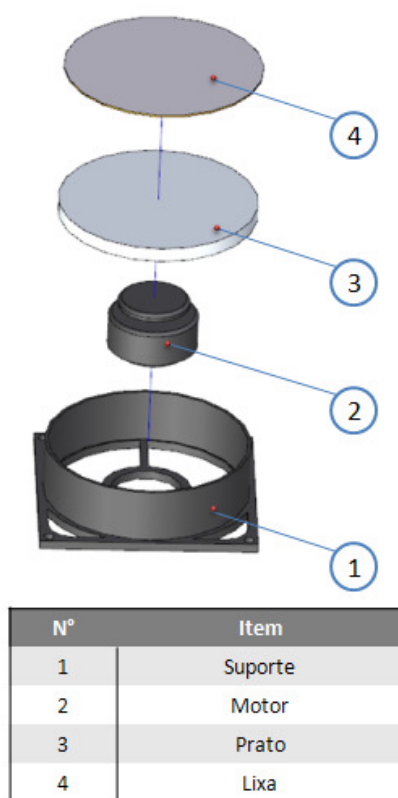


Figura 15: Vista explodida da lixadeira e lista de peças.

A montagem da lixadeira foi executada conforme ilustrado na Figura 15 e a confecção e adaptação dos componentes foram realizados na oficina mecânica da EMBRAPA (CNPDI). O acionamento do prato porta lixa, item (3) da Figura 15, foi realizado com um cooler de computador sem as hélices da marca SMART (1;2) alimentado com 0,14A a 12V. Ao prato (3) foi colada uma lixa d'água nº1500 (4).

Após a montagem a rotação da lixa foi medida em 5 repetições com auxílio de um tacômetro óptico da marca Microtest, modelo F45.

À lixadeira foi acoplado um braço articulado com 3 graus de liberdade conforme Figura 16.

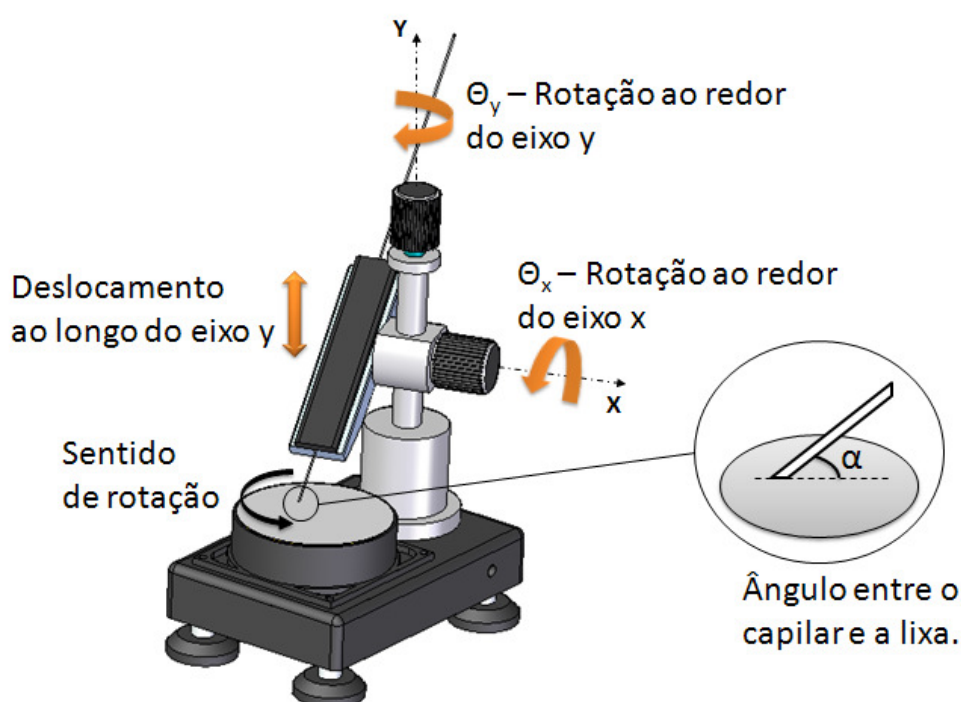


Figura 16: Representação 3D do conjunto lixadeira e braço articulado.

A função do braço articulado, Figura 16, foi permitir a fixação do capilar, o ajuste do ângulo (α) entre a ponta do capilar e o plano de lixamento, e o seu posicionamento em relação ao centro da lixa (r).

Anterior às etapas de fixação e lixamento do capilar, foi necessário regular o equipamento com os parâmetros “ α ” e “ r ”. Com o auxílio de um transferidor, o ângulo “ α ” pôde ser atingido através do acionamento manual do posicionador rotativo (θ_x) (2). A título de padronização foi adotado o valor de 45° para “ α ”.

Após a regulagem da posição, o capilar foi encaixado no sulco do suporte metálico (6), conforme detalhe “A-A” da Figura 17 e posicionado com sua ponta próxima à lixa, cerca de 1 mm. Em seguida o capilar pôde ser preso pela colocação do suporte de fixação magnético (5).

Com o capilar devidamente fixado, o equipamento pôde ser acionado. Após atingir sua velocidade de rotação nominal, foi realizado o toque suave da ponta com a lixa.

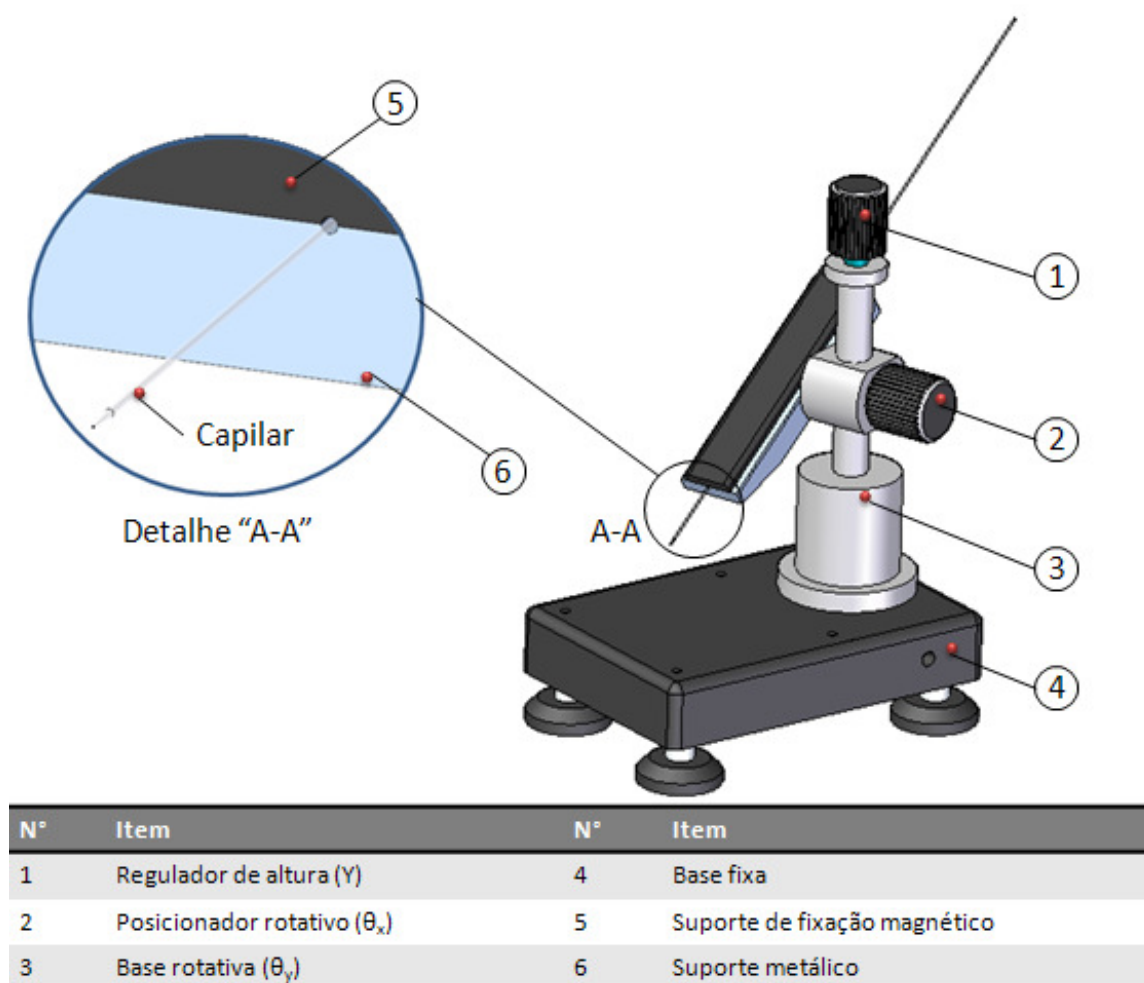


Figura 17: Representação 3D do braço articulado e lista de componentes.

Das pontas aprovadas nas etapas anteriores, 20 foram submetidas a lixamento e posteriormente foram examinadas com auxílio de um estereoscópio com aumento de 100 vezes. A imagem capturada pode ser medida com o uso do software “MED”.

5.3.4 Enchimento

Após a confecção, ajuste e verificação das pontas, os capilares aprovados tiveram seus interiores preenchidos com óleo de silicone corado com Sudanblack (PESSOA, 1999).

Nesta etapa a ponta dos capilares foram instaladas em uma câmara sob vácuo e a outra ponta mergulhada na solução óleo/corante. O vácuo foi produzido por uma bomba de vácuo da marca Fisatom modelo 820, a (-550 mmHg). A Figura 18 representa a montagem proposta.

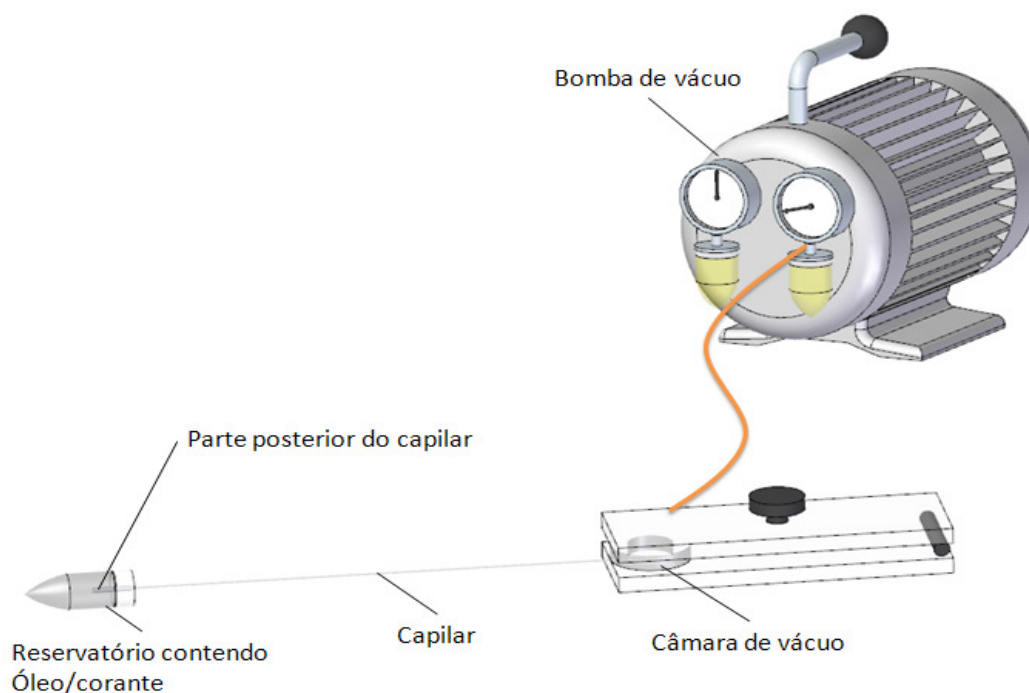


Figura 18: Representação esquemática da etapa de enchimento do capilar.

5.3.5 Vedação

Após o completo preenchimento, a parte posterior dos capilares foi retirada da mistura óleo/corante e mergulhada totalmente em cianoacrilato. A porção envolta pelo adesivo foi de aproximadamente 10 mm. Para garantir a ausência de bolhas, com auxílio de uma lâmina metálica, destacou-se os 5 mm finais de cada capilar restando ainda 5 mm totalmente mergulhados em cianoacrilato. A bomba de vácuo foi acionada novamente por aproximadamente 1 segundo a fim de garantir a entrada do adesivo no interior dos capilares, vedando-os. Para garantir a cura do cianoacrilato foi necessário aguardar 5 minutos conforme indicação do fabricante (HENKEL LTDA, 2008).

O procedimento de vedação descrito encontra-se representado na Figura 19.

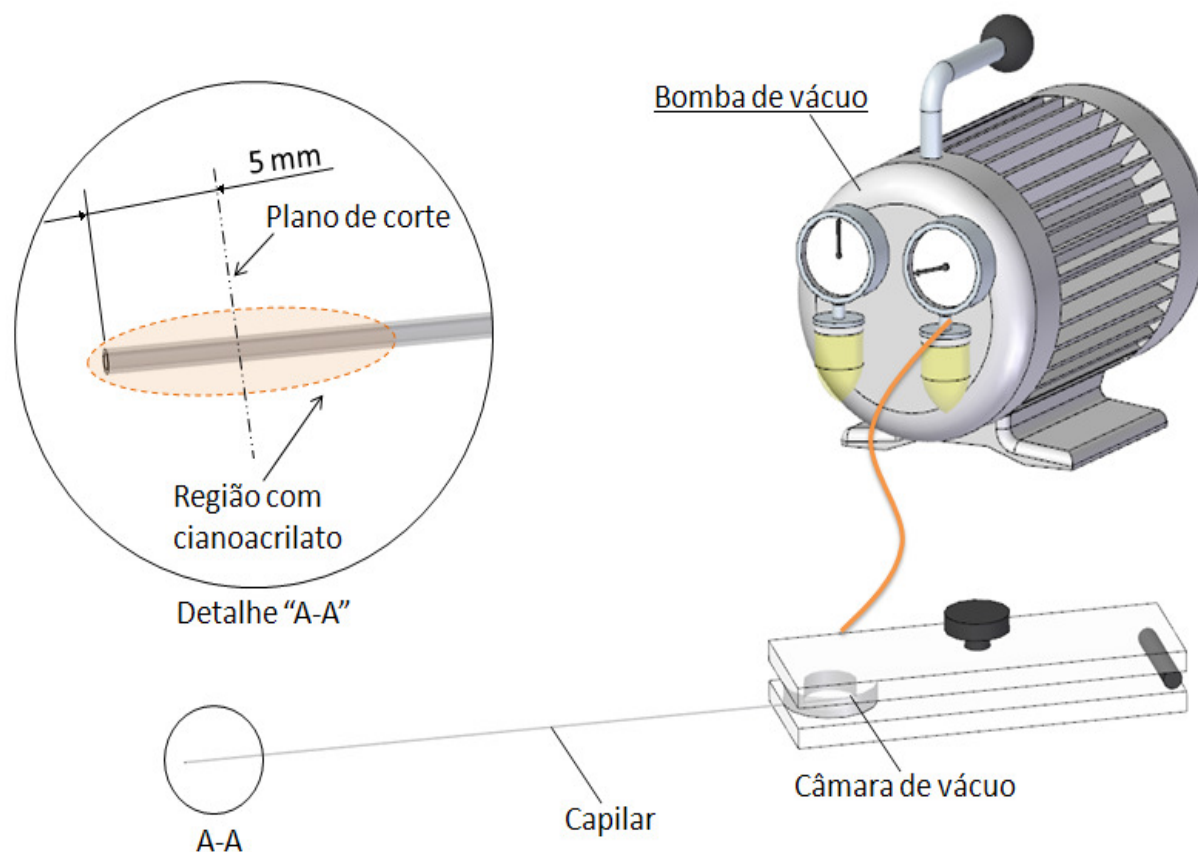


Figura 19: Representação esquemática da montagem para operação de vedação.

5.4 Software para detecção automática da posição do menisco

A correta detecção da posição do menisco é fundamental para medição do turgor pelo método isovolumétrico em Sonda Termoelástica. O software DETECT.a foi desenvolvido para essa função. Neste programa foi implementada uma sub-rotina para aquisição de imagens a cada 33,33 ms, equivalente a uma taxa de captura de 30 fps. Em seguida foi adicionada ao programa outra sub-rotina que permitiu ao usuário desenhar uma linha sobre a tela do computador, em longo da qual o software realiza a busca do menisco, procurando por variações abruptas de contraste formado na interface óleo/solução aquosa. Em Husken e colaboradores (1978) a variação da resistência de um fio de prata com diâmetro de 1 μ m introduzido no interior do capilar indicava a posição do menisco.

Para facilitar a visualização do deslocamento do menisco pelo usuário, o software gerou sobre a reta selecionada um ponto de ocorrência vermelho, coincidente com a posição instantânea do menisco, além da imagem do mapa de contrastes. Também foi disponibilizado para o usuário um gráfico da posição do menisco, atualizado de acordo com a taxa de captura de imagens. As atividades de detecção do menisco, posicionamento do ponto de ocorrência e medida de turgor foram todas sincronizadas a partir da taxa de aquisição de imagens a uma frequência de 30 Hz (WONG, 2009).

Como parâmetros de entrada foi permitido ao usuário escolher o tamanho e a disposição da reta sobre a tela, a taxa de captura de imagens (padrão recomendado 30 fps) e campo para inserção do nome do arquivo. Caso o usuário não informasse manualmente estas entradas, o sistema automaticamente operava a 30 fps e o arquivo era salvo em diretório padrão no formato (.txt). Apenas a reta não pôde ser selecionada automaticamente.

Com a finalidade de promover o entendimento da lógica de detecção da posição do menisco, foi proposto o fluxograma representativo do algoritmo utilizado, conforme Figura 20.

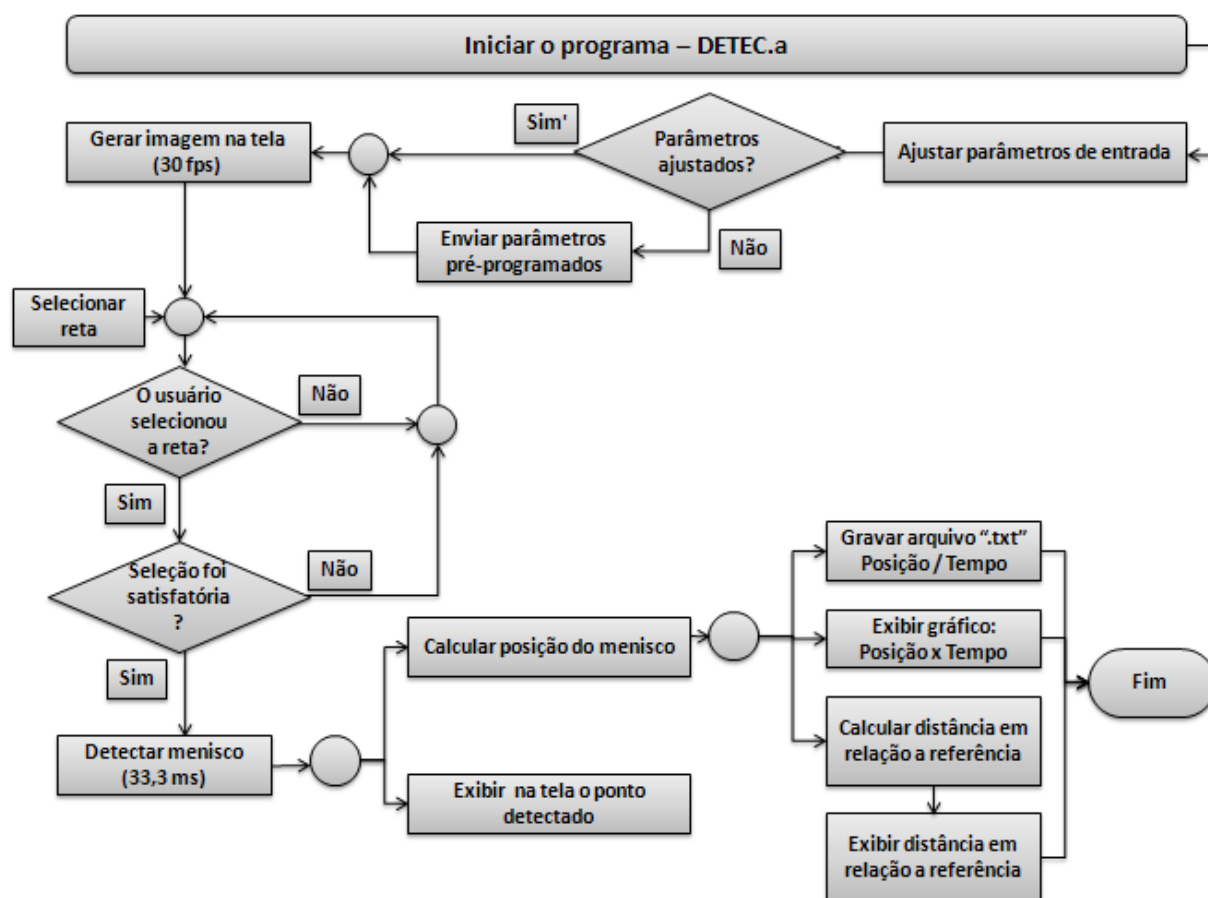


Figura 20: Fluxograma representativo da implementação do programa “DETEC.a”.

Após a implementação do programa DETEC.a, foi realizada a análise do sinal capturado (posição do menisco no tempo). Foram gravados o sinal puro, sem aplicação de filtro e o sinal com filtro baseado em média móvel (5 iterações) (BERTUCCI NETO, 2005). Esta técnica é bastante conhecida para suavizar sinal ruidoso, reduzindo sua variância (BRACEWELL, 1986). Nesta etapa, as medições foram realizadas a temperatura e pressão constantes.

A influência da temperatura do meio ambiente sobre a posição do menisco foi determinada por meio do monitoramento contínuo da posição do mesmo por um período de 45 minutos com uma taxa de amostragem de 30 amostras por segundo. Durante todo o período de medida o controle de temperatura permaneceu desligado e a tensão na fita resistiva foi de 0 V.

5.5 Software para medidas isovolumétricas

O desempenho de muitos sistemas de controle depende das características do ambiente onde os mesmos estão localizados, podendo um sistema em malha aberta não responder adequadamente aos comandos do operador devido a alterações do ambiente como pressão temperatura e umidade por exemplo. Os controladores são utilizados para evitar tais ocorrências, ou seja, ao invés do usuário compensar manualmente estes efeitos, o controlador o faria, corrigindo o sinal de entrada em função dos desvios com relação à referência estabelecida pelo usuário.

Para definição correta da forma de controle do sistema, foi necessário realizar alguns testes preliminares para identificar as características do mesmo. Nesta seção foram descritos os testes e como auxiliaram no desenvolvimento da metodologia de controle.

Primeiramente, para início do controle da posição do menisco, foi necessário definir o tipo da função transferência (FT) $G(s)$ que descreve o comportamento dinâmico do sistema. Para alcançar este objetivo, aplicou-se uma entrada degrau no valor de 0,025 V e em seguida foi medido o deslocamento do menisco em pixels. Esta operação foi realizada em malha aberta, conforme diagrama de blocos representado pela Figura 21 (KUO, 1985).

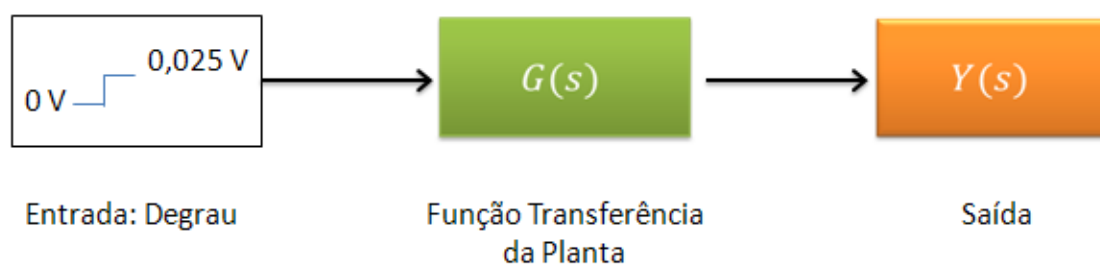


Figura 21: Representação do diagrama de blocos para uma entrada do tipo degrau em malha aberta.

A curva de resposta obtida apresentou forte semelhança com a curva característica de resposta ao degrau unitário em sistemas de primeira ordem. A Figura 22 ilustra a sobreposição entre a curva característica de sistemas de primeira ordem e a curva de resposta, ambos normalizados.

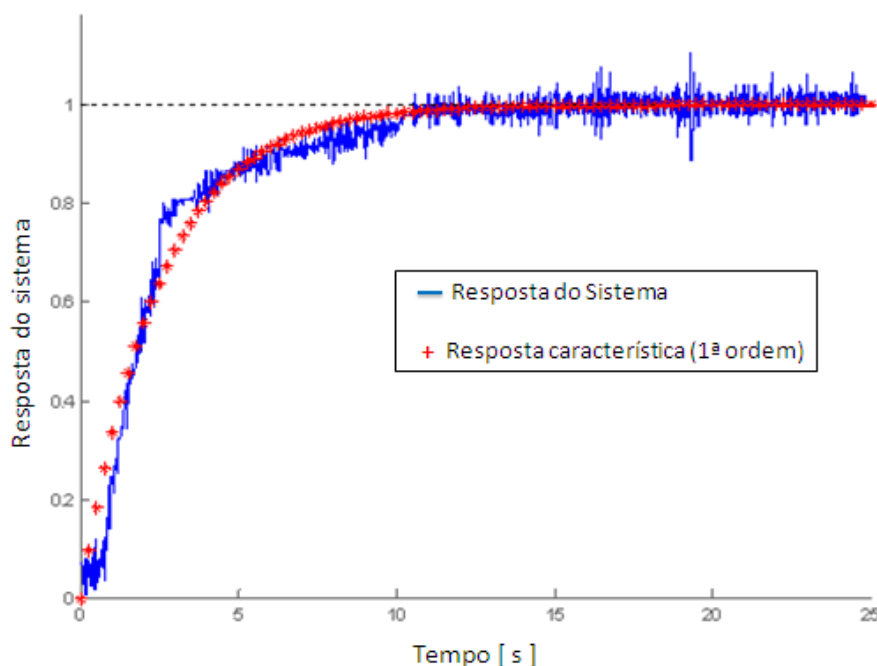


Figura 22: Resposta experimental normalizada do sistema em função de entrada degrau (em azul) e resposta característica simulada de sistemas de 1ª ordem (em vermelho).

Ao analisar a Figura 22, foi razoável admitir que o comportamento da planta pudesse ser descrito por uma função de transferência de primeira ordem. Desta forma, $G(s)$ pôde ser representada pela equação 11 (SILVA, 2008).

$$G(s) = \frac{K_0}{T \cdot s + 1} \quad (11)$$

Onde “ K_0 ” representa o ganho e “ T ” a constante de tempo do sistema. A constante de tempo foi encontrada a partir da determinação do tempo necessário para se alcançar 63,2% do valor final da resposta ao degrau (OGATA, 2003)..

Já o ganho foi encontrado pela relação entre o deslocamento do menisco em pixels (Δpx) e o degrau fornecido em volts (ΔV_T) conforme a equação 12.

$$K_0 = \frac{\Delta px}{\Delta V_T} \quad (12)$$

Para definição dos valores médios da constante de tempo e ganho, foram aplicados 3 valores distintos de degraus de tensão (0,025V, 0,050V e 0,075V). O valor inicial da tensão

foi de 0,900 V. O tempo de espera após a aplicação dos degraus foi de 45 segundos a fim de permitir a estabilização do sistema. Este procedimento foi realizado com 5 repetições.

Após a definição dos parâmetros da planta foi estabelecido o controle da mesma em malha fechada (com realimentação), representado pelo diagrama de blocos da Figura 23, onde $R(s)$ é o sinal de referência na entrada (*set point*), $C(s)$ representa a função de transferência do controlador, $Y(s)$ o sinal de saída, T_d o distúrbio (convertido em pixels) e $G(s)$ a FT da planta como descrito anteriormente.

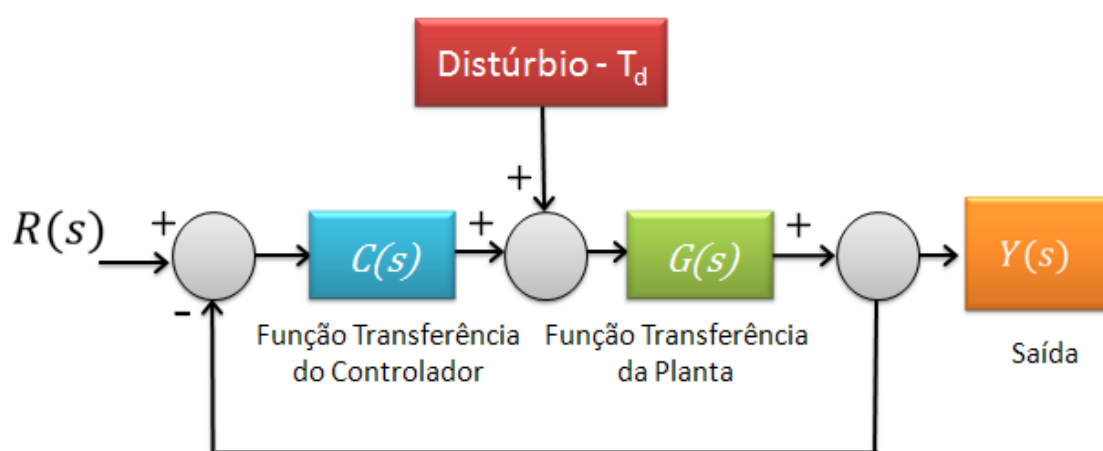


Figura 23: Diagrama de blocos para controle do sistema realimentado.

A fase seguinte foi de elaboração do controlador para viabilizar a automação do processo de medição de turgor. Na elaboração de um controlador, o erro de regime para uma determinada entrada define o tipo de controlador e os índices de desempenho determinam suas especificações. Foi adotado como premissa deste projeto que o sistema deve possuir erro de regime permanente nulo para uma entrada degrau, sendo assim o controlador escolhido foi do tipo Proporcional Integrativo (PI) (OGATA, 2003). Esta escolha foi justificada pelo fato de que o método isovolumétrico de medição do turgor baseia-se na análise da tensão fornecida para forçar o retorno do menisco à sua posição inicial. A função de transferência de controladores PI pode ser definida pela equação 13 (SILVA, 2008), em que o parâmetro K_p representa o ganho proporcional e T_i define a constante de integração do controlador.

$$C(s) = K_p \cdot \left(1 + \frac{1}{s \cdot T_i} \right) \quad (13)$$

Para valores de “ K_p ” bem pequenos a função de transferência em malha fechada do sistema de controle, $G_{MF}(s)$, pôde ser aproximada pela equação 14 (ARAÚJO, 2008).

$$G_{MF}(s) = \frac{Y(s)}{R(s)} = \frac{C(s).G(s)}{1 + C(s).G(s)} = \frac{\omega_n^2}{s^2 + 2.\zeta.\omega_n.s + \omega_n^2} \quad (14)$$

Substituindo as funções de transferência $C(s)$ e $G(s)$, na terceira parcela de 14, encontramos a equação 15.

$$G_{MF}(s) = \frac{\frac{K.K_p}{T.T_i}}{s^2 + \frac{K.K_p + 1}{T}.s + \frac{K.K_p}{T.T_i}} \quad (15)$$

Ao analisar a semelhança entre as equações 14 e 15, foi possível encontrar as equações que definem os parâmetros do controlador, 16 e 17. Entretanto esta definição não é suficiente para garantir o sucesso da implementação do sistema de controle.

$$K_p = \frac{2.T.\zeta.\omega_n^2 - 1}{K} \quad (16)$$

$$T_i = \frac{K.K_p}{T.\omega_n^2} \quad (17)$$

O sucesso da implementação pode ser determinado pela aplicação do método de Routh-Hurwitz (ROSÁRIO, 2005). O método de estabilidade de Routh-Hurwitz define se um sistema é estável ou não, levando em consideração a equação característica do sistema escrita na variável de Laplace “ s ”, conforme equação 18.

$$q(s) = a_n.s^n + a_{n-1}.s^{n-1} + \dots + a_1.s^1 + a_0 = 0 \quad (18)$$

O critério de Routh-Hurwitz declara que o número de raízes de “ $q(s)$ ” com parte real positiva é igual ao número de trocas de sinais da tabela de Routh. Para um sistema estável não deve haver trocas de sinal na primeira coluna da tabela. Dorf e Bishop (2009), declaram que este requisito é necessário e suficiente. O polinômio característico da função de transferência do sistema realimentado pode ser definido pelo denominador das equações 12 ou 13. A tabela de Routh para função de transferência definida pela equação 14 foi representada pela Tabela 3.

Tabela 3: Tabela de Routh para polinômio característico da função de transferência do sistema controlado por PI com realimentação.

s^2	1	$\frac{K.K_p}{T.T_i}$
s^1	$\frac{K.K_p+1}{T}$	0
s^0	$\frac{K.K_p}{T.T_i}$	0

A exigência para um sistema de segunda ordem ser estável é simplesmente que todos os coeficientes sejam positivos ou negativos. Como temos $a_2 = 1$, a_1 e a_0 também devem ser positivos, fato representado pelas equações 19 e 20.

$$\frac{K.K_p + 1}{T} > 0 \quad (19)$$

$$\frac{K.K_p}{T.T_i} > 0 \quad (20)$$

Estas condições sempre serão verdadeiras para qualquer valor de ganho proporcional e constante de tempo de integração maiores que zero. Logo a aplicação das equações 16 e 17 satisfazem o critério de estabilidade de Routh-Hurwitz.

Dorf e Bishop (2009) sugerem alguns critérios para definição de índices de desempenho e enfatiza o critério ITAE. O valor de relação de amortecimento “ ζ ” selecionado com base no índice ITAE foi de 0,7. Para um sistema de segunda ordem resulta em uma resposta rápida ao degrau com uma ultrapassagem percentual de 4,6% conforme Figura 24.

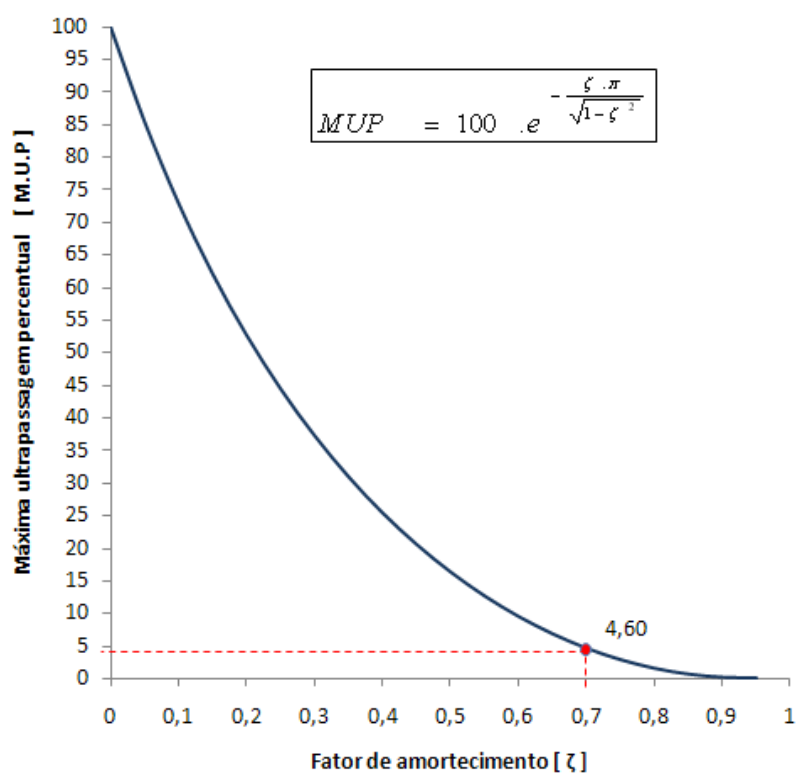


Figura 24: Gráfico representativo da máxima ultrapassagem percentual em função do fator de amortecimento para sistemas de segunda ordem.

A partir da definição do valor de ζ , e adotando o tempo razoável de 30 s para acomodação do sistema a 98% do valor de regime estacionário “ V_r ”, foi possível calcular o valor da frequência natural pela equação 21 (DORF; BISHOP, 2009).

$$\omega_n = \frac{4}{\zeta \cdot T} \quad (21)$$

Este procedimento implicou em aceite de erro de até 2% em relação ao regime estacionário conforme gráfico da figura 25.

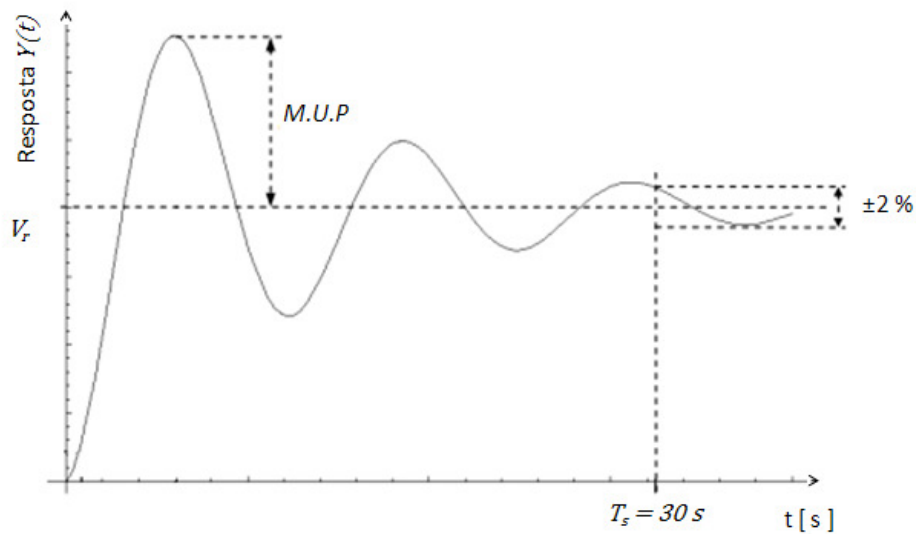


Figura 25: Representação do tempo para acomodação a 98% do valor de regime estacionário para sistema de segunda ordem proposto, sujeito à entrada degrau.

Após a determinação de ω_n foi possível encontrar quais os parâmetros ótimos para o controlador PI.

Para verificação da resposta do sistema foi simulada uma entrada degrau de posição, semelhante ao estímulo provocado após a penetração da ponta do capilar em uma célula. O sinal da resposta realimentada controlada por PI foi gravado e posteriormente comparado à curva de resposta em função do tempo dada pela equação 22.

$$Y(t) = 1 - \frac{1}{\beta} \cdot e^{\zeta \cdot \omega_n \cdot t} \cdot \text{sen}(\omega_n \cdot \beta \cdot t + \theta) \quad (22)$$

Com “ β ” e “ θ ” representados pelas equações 23 e 24 para qualquer valor de “ ζ ” entre zero e um.

$$\beta = \sqrt{1 - \zeta^2} \quad (23)$$

$$\theta = \text{acos}(\zeta) \quad (24)$$

Foi mostrado, conforme a equação 06, que alterações de temperatura no fluido sensor a um volume constante implicam em uma variação de pressão. Na montagem proposta, a variação de temperatura do fluido sensor pôde ser controlada através da variação do valor de tensão (V_{cc}) fornecido à fita resistiva em contato direto com o capilar. A variação de tensão implica na variação da potência fornecida (P_{ot}), conforme equação 25, onde “ R ” é o valor da resistência da fita:

$$P_{ot} = \frac{V_{cc}^2}{R} \quad (25)$$

Foi obtida uma relação matemática entre o valor da pressão aplicada e a variação de potência necessária para manutenção da posição inicial do menisco. Para construção da relação foram aplicados 13 degraus sucessivos de pressão partindo de 0 kPa até 500 kPa, medidos com auxílio de um sensor de pressão da marca Honeywell, modelo ISSUE 3 / PK80083. Os degraus foram obtidos através do controle da abertura de uma válvula esfera ($\varnothing 1/8''$), conectada à saída de um compressor da marca Fisatam, modelo 820. Após a aplicação do degrau de pressão a tensão foi ajustada manualmente com auxílio de uma fonte reguladora de tensão. Nesta fase, foi adicionado ao software “DETEC.a” uma sub-rotina para leitura e gravação do valor de pressão, caracterizando assim a versão “b”. Com auxílio do software “DETEC.b⁸”, foi possível confirmar o retorno do menisco à sua posição inicial. Após a estabilização do menisco, o software gravou os valores de tensão, pressão e posição do menisco a uma taxa de 33,33 gravações por segundo durante o período de 6,6 segundos, gerando uma amostragem de 200 medições por ponto do gráfico. A utilização da placa de aquisição de dados NI - 6035E da National Instruments permitiu o registro dos valores de tensão e pressão. A Figura 26 ilustra a montagem para realização da calibração do sensor.

⁸ DETECT.b – 2ª versão do software DETECT, com a adição da sub-rotina para leitura e gravação da pressão aplicada ao menisco.

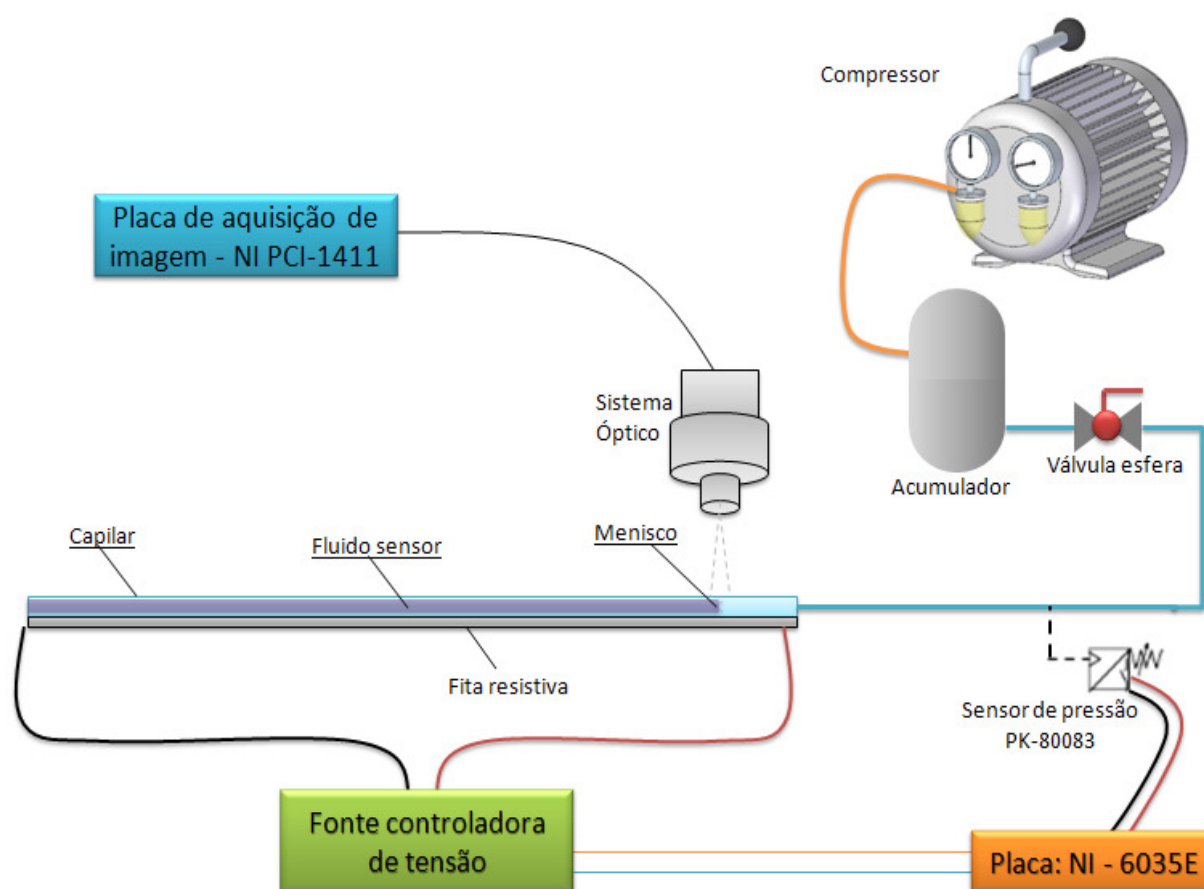


Figura 26: Montagem para calibração do sensor termoelástico, pelo levantamento da curva de pressão por potência, aplicadas para manutenção da posição inicial do menisco.

Após a definição do controlador PI e da curva de calibração do sensor, foi adicionada ao software “DETEC.b” a sub-rotina para cálculo do turgor calculado a partir da função definida pela curva “potência aplicada x pressão” baseada na equação 26. Onde “a” é o coeficiente angular da reta de calibração do sistema.

$$P(\Delta P_{ot}) = a \cdot \Delta P_{ot} \quad (26)$$

Com a incorporação do cálculo da pressão de turgor, o software recebeu o nome de “ST.aut”⁹ Seu algoritmo é representado pela Figura 27.

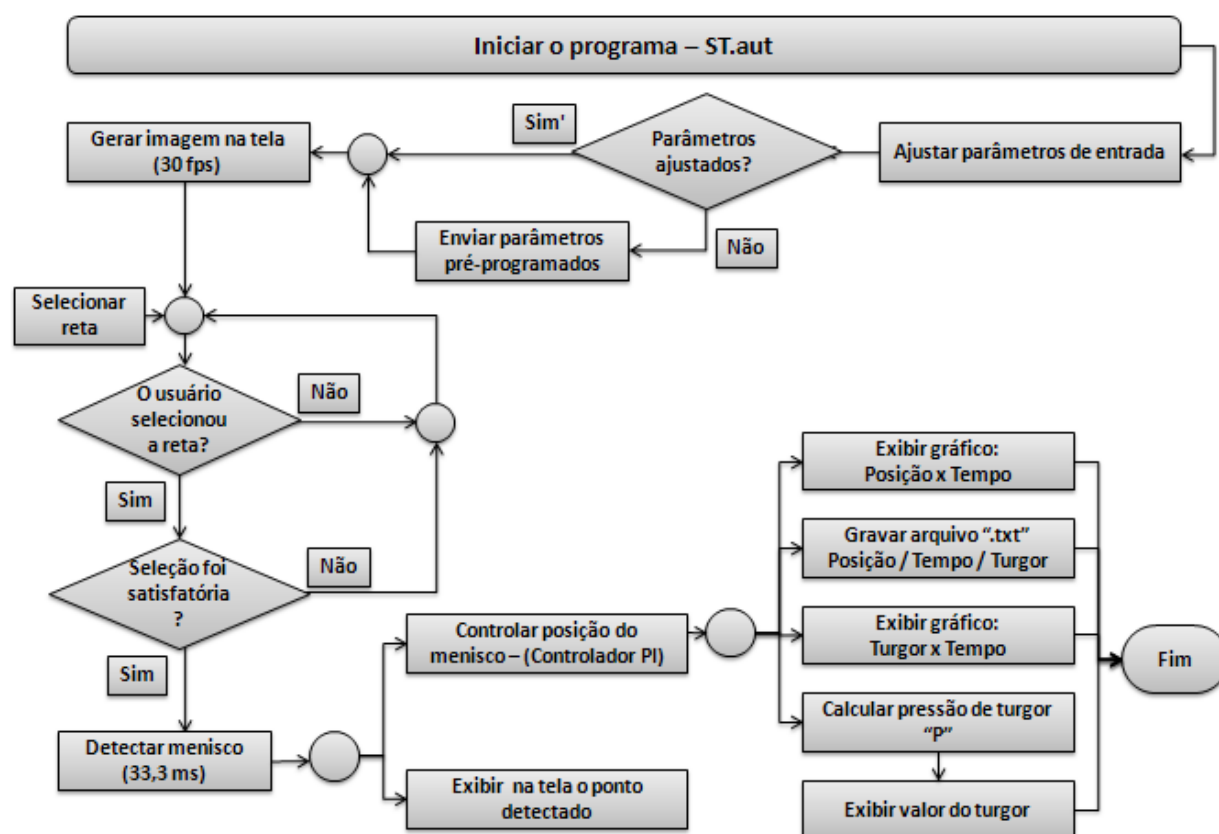


Figura 27: Fluxograma representativo do algoritmo do software “ST.aut”, proposto para cálculo do turgor em ST.

⁹ ST.aut – Versão final do software para determinação automática da pressão de turgescência em células de órgãos vegetais.

5.6 Medição automática do turgor em células de cebola (*Allium cepa* L.)

O software “ST.aut” foi utilizado na medição do turgor celular em cebolas (*Allium Cepa* L.) com intuito de verificar o comportamento do valor do turgor celular em função do tamanho da lesão por punção e da distância de medição em relação a lesão.

O material vegetal utilizado neste experimento foi obtido no comércio local, da cidade de São Carlos – SP. No Laboratório de Inovação em Pós-colheita (LIPCo) foram separadas três cebolas de tamanhos aproximados e em seguida submetidas, uma de cada vez, à seguinte seqüência de tratamento:

1. Retirada do catáfilo externo conforme Figura 28.

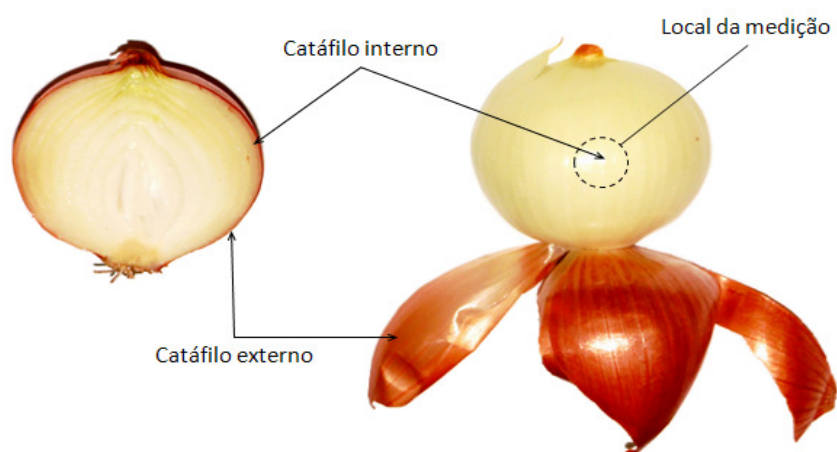


Figura 28: Representação do local de medição do turgor em cebola (*Allium cepa*) integra.

2. Colocação do material vegetal sobre o “Minigoniômetro-G1” do carro porta amostras e posicionamento.
3. Medição do turgor na região equatorial da cebola ainda intacta.
4. Puncionamento do catafilo com objeto cilíndrico oco. Na região equatorial de cada cebola foi feito um único furo com diâmetro de 3,0 mm, 7,0 mm e 15,0 mm respectivamente.

5. Após o puncionamento foram realizadas medidas de turgor a 1 mm, 5 mm, 10 mm, 20 mm e 40 mm em relação à borda da injúria conforme Figura 29.

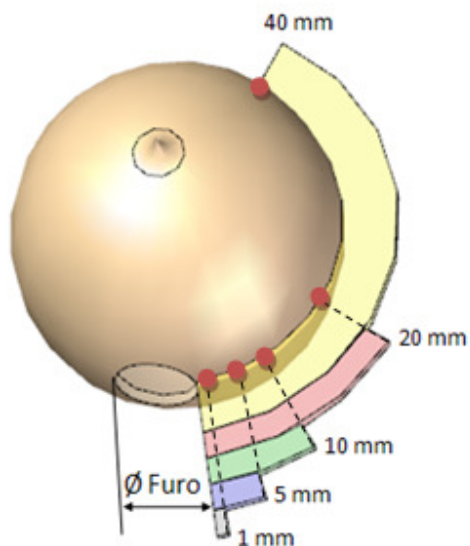


Figura 29: Representação do local de medição do turgor em cebola (*Allium cepa L.*) lesionada.

Com este tratamento foi possível identificar as alterações no turgor causadas pela ocorrência de lesão mecânica por puncionamento.

6 Resultados e discussão

6.1 Projeto Mecânico e construção da Sonda Termoelástica

A realização do projeto mecânico conforme as Figuras 30 e 31 constituiu a Sonda Termoelástica para medição de turgor de forma manual.

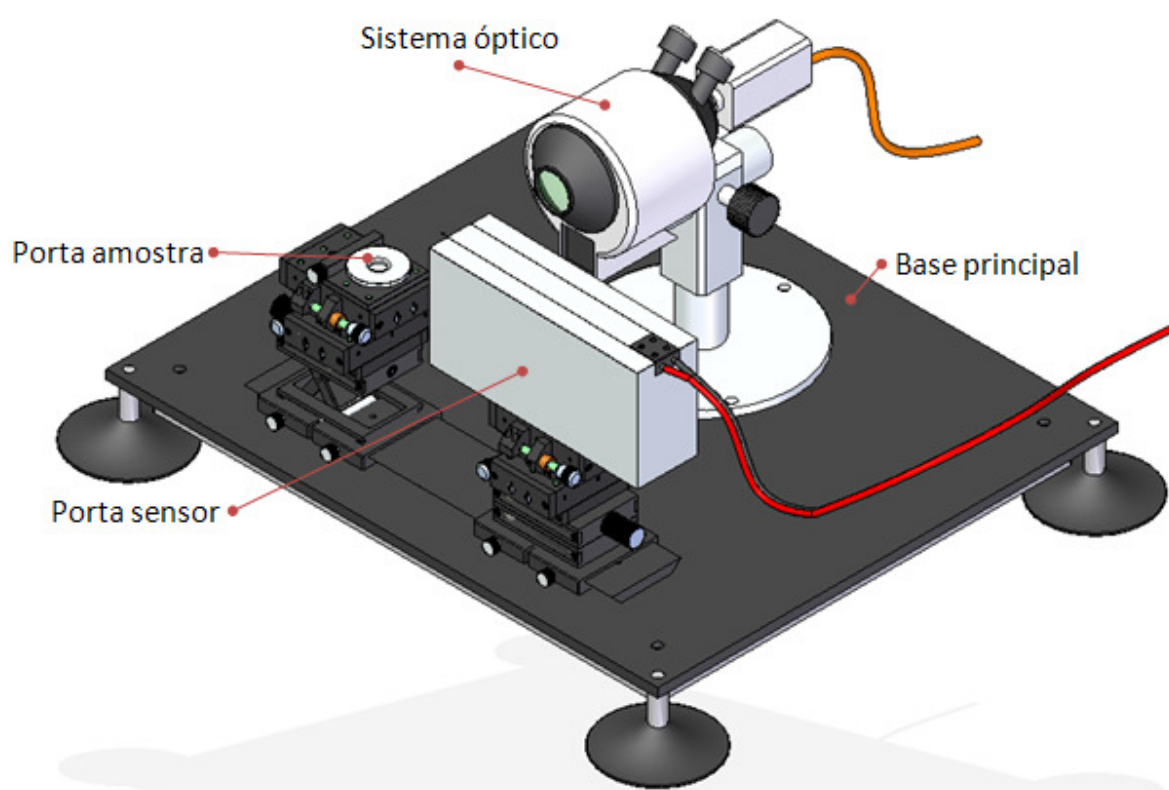


Figura 30: Representação 3D da montagem completa para sistema de medição de turgor baseado no princípio da termoelasticidade.

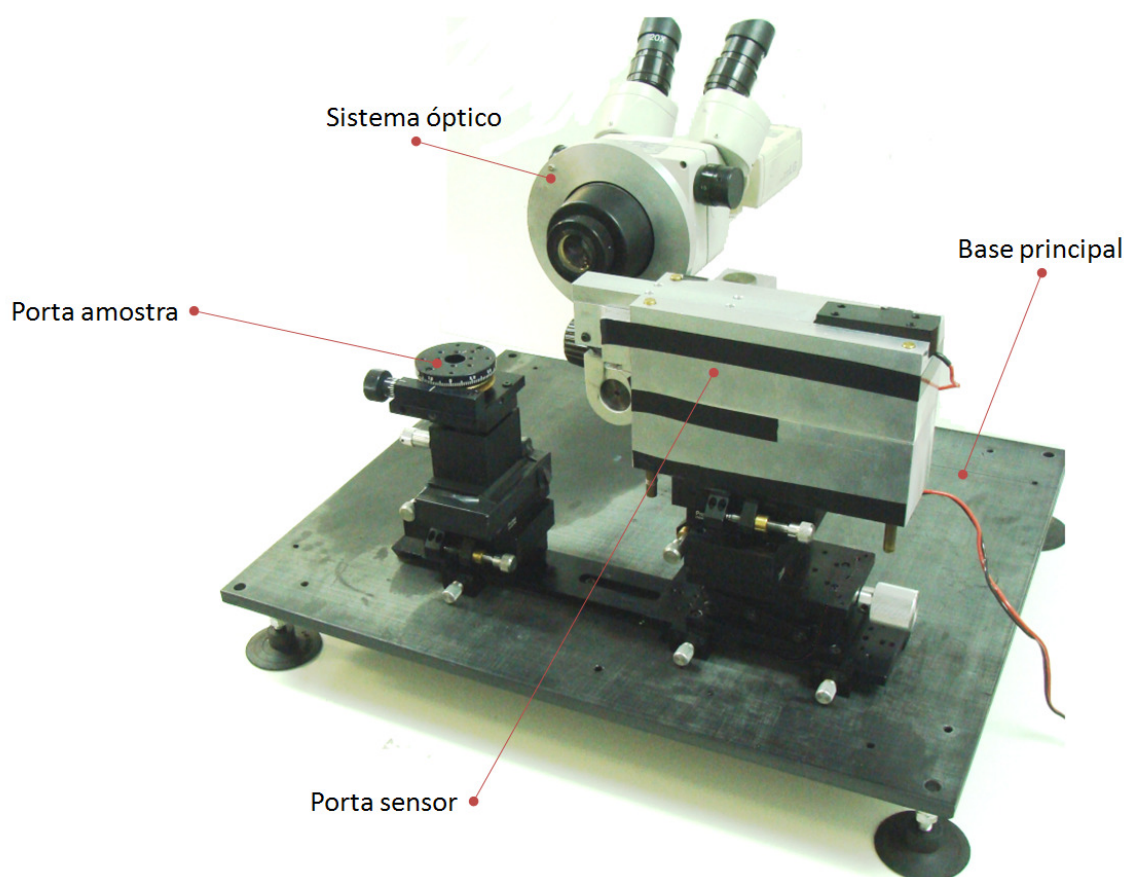


Figura 31: Foto do sistema construído para medição de turgor baseado no princípio da termoelasticidade.

Nos sistemas anteriores o alinhamento das partes demorava aproximadamente uma hora (PESSOA, 1999; BERTUCCI NETO, 2005). A nova montagem da Sonda Termoelástica permitiu maior agilidade tanto no posicionamento da amostra quanto no posicionamento do sensor, em relação ao sistema óptico. Isso foi possível devido à aplicação dos transladores com fusos de avanço micrométrico sobre guias precisas ($250 \mu\text{m/volta}$) e a forma construtiva do porta sensor que garantiram repetibilidade de posicionamento do sensor. Tais alterações permitiram realizar as operações de troca de sensor, posicionamento da amostra e sensor em uma média de 5 minutos. Além disso, em trabalhos futuros, o projeto mecânico pode ser adaptado para automatizar e controlar os avanços lineares ou angulares das partes móveis através do emprego de servos-motores ou motores de passo.

6.2 Software para medição das características geométricas do sensor

Para determinação do comprimento padrão do pixel, foram realizadas 30 medições em comprimento de 100 μm com auxílio do software “MED” e régua micrométrica. O comprimento médio do pixel foi de 0,777 μm , com desvio padrão de 0,003 $\mu\text{m}/\text{pixel}$. O valor médio do pixel em micrometros, foi incorporado às rotinas de cálculo do programa DETEC.a. Esta informação foi fundamental para análise e padronização das características geométricas dos capilares.

6.3 Manufatura do sensor

O comprimento final dos capilares esticados *com anteparo* (CA) apresentaram uma variação aproximada de 5 mm entre o maior e o menor capilar, já *sem anteparo* (SA) esta variação foi de aproximadamente 22 mm. Foram observadas variações médias de diâmetro ao longo do capilar, 30,95 % (CA) e 24,78 % (SA), possivelmente causadas pela diferença de desaceleração entre os métodos, visto que a parada ocorre de forma mais brusca com uso de anteparo. O diâmetro médio obtido foi de $(240 \pm 10) \mu\text{m}$ (CA) e $(240 \pm 21) \mu\text{m}$ (SA) e a taxa de aproveitamento foi de 55% (CA) e 50% (SA) para esta etapa.

Na etapa seguinte de obtenção da ponta, verificou-se a relação entre a tensão aplicada no aquecedor e as características geométricas das pontas obtidas. A Figura 32 ilustra exemplos de pontas obtidas em função da tensão aplicada ao aquecedor.

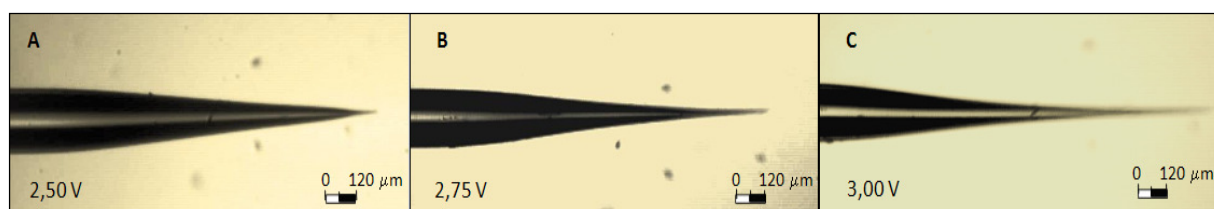


Figura 32: Exemplos de pontas obtidas em função da tensão aplicada ao aquecedor: 2,50V; 2,75V e 3,00V para as situações A, B e C respectivamente.

A Tabela 4 sintetiza as características geométricas das pontas obtidas em função de valores de tensão pré-estabelecidos.

Tabela 4: Características geométricas das pontas dos sensores, obtidas em diferentes níveis de tensão.

Tensões aplicadas	Ø ponta [μm]	Desvio Padrão [μm]	Conicidade [$^{\circ}$]	Desvio Padrão [$^{\circ}$]
2,50 V	8,67	1,81	4,50	1,47
2,75 V	6,67	1,79	2,28	1,24
3,00 V	7,50	1,65	2,76	0,78

As Tabelas 5 e 6 apresentam os resultados da aplicação da técnica ANOVA para análise estatística referente a aplicação de diferentes tensões na obtenção das pontas dos sensores.

A Tabela 5 indica “p” menor que 0,05, o que implica em rejeição da hipótese nula de igualdade de médias para qualquer nível de significância. Portanto a tensão é estatisticamente significativa para obtenção do diâmetro da ponta do capilar. O valor de “F” nos mostra que a variabilidade entre os grupos (de tensão) é 5,96 vezes maior que a variabilidade dentro do grupo.

Tabela 5: ANOVA fator único a 5% para determinação da influência da tensão no diâmetro da ponta obtida.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	36,6	2	18,3	5,960	0,00712	3,354
Dentro dos grupos	82,9	27	3,1			
Total	119,5	29				

Porém não temos condições, por meio do teste ANOVA, de afirmar se a diferença significativa está entre as tensões de 2,50 V e 2,75 ou entre 2,50 V e 3,00 V ou entre 2,75 e

3,00 V. A comparação através do Teste-t a 5% de significância revelou que apenas o par 2,50 V e 2,75 V apresentou diferença estatística significativa em relação ao diâmetro da ponta.

A Tabela 6 indica “p” menor que 0,05 implicando em rejeição da hipótese nula para igualdade de médias a qualquer nível de significância e indica que o efeito da tensão é estatisticamente significativo para conicidade da ponta do sensor. O valor de “F” nos mostra que a variabilidade entre os grupos é 10,82 vezes maior que a variabilidade dentro do grupo.

Tabela 6: ANOVA fator único a 5% para determinação da influência da tensão na conicidade da ponta obtida.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	31,15	2	15,58	10,820	0,00035	3,354
Dentro dos grupos	38,86	27	1,44			
Total	70,015	29				

O Teste-t, aplicado a 5% de significância identificou que o tratamento com 2,50 V apresenta diferença estatística em relação aos demais tratamentos, enquanto que os tratamentos com 2,75 V e 3,00 V não apresentaram diferenças estatísticas significativas entre si.

Como a maioria das pontas obtidas no *puller* estavam fechadas ou apresentavam irregularidades, a etapa de lixamento se mostrou indispensável.

A utilização do sulco no suporte metálico e a colocação do suporte de fixação magnético permitiram rápido posicionamento e boa estabilidade para o capilar durante a operação de lixamento.

Para definição correta de “*r*” (distância entre o centro da lixa e o ponto de contato com o capilar), partiu-se do pressuposto que a operação de lixamento pode ser analisada de forma análoga à operação de usinagem denominada retificação. Por definição, retificação é um processo abrasivo proporcionado pela ação de um rebolo com uma grande quantidade de arestas de corte distribuídas de forma aleatória e capazes de proporcionar acabamento

superficial de baixa rugosidade (Ra de 0,2 μm a 1,6 μm) com tolerância dimensional entre IT4 e IT6 (FERRARESI, 2003; DINIZ *et al.*, 2008).

A análise da potência de corte (P_c) definida pelo produto da força de corte (F_c) e velocidade de corte (V_c) conforme equação 07 é o ponto de partida para se encontrar o valor de “r”.

$$P_c = F_c \cdot V_c \quad (07)$$

A potência de corte pode também ser escrita em função da potência motriz (P_M) associada ao motor de acionamento e seu rendimento (η) conforme equação a 08.

$$P_c = P_M \cdot \eta \quad (08)$$

No sistema proposto admitiu-se valor constante para “ P_M ”, já o valor de “ P_c ” é dependente do rendimento da operação que está associado à pressão da ponta sobre a lixa. O controle desta variável impacta diretamente no controle da intensidade de desbaste.

Em testes preliminares verificou-se que durante o lixamento, o capilar sofria deformação elástica por flexão (flecha) devido ao avanço em “Y” após a ponta ao tocar a lixa. Esta constatação permitiu analisar o comportamento do capilar como uma viga em balanço submetida a um carregamento concentrado na extremidade. O cálculo da flecha (f) foi definido pela aplicação da equação da linha elástica 09, onde “ P ” é a carga perpendicular ao ponto de engaste da viga, “ E ” corresponde ao módulo de elasticidade do material e “ I ” representa o momento de inércia da área correspondente à secção transversal do corpo do capilar.

$$f = \frac{P \cdot L^3}{3 \cdot E \cdot I} \quad (09)$$

Foi representado pela Figura 33 o diagrama de corpo livre dos esforços atuantes com a lixa parada na formação da flecha, para uma melhor compreensão do leitor.

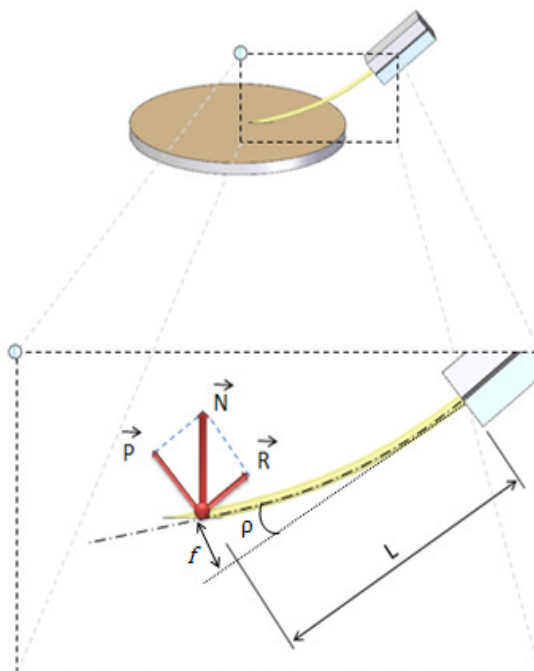


Figura 33: Diagrama de corpo livre para esforço resultante do contato do capilar com a lixa parada.

Controlar o comprimento da flecha através de um dispositivo de avanço preciso em “Y” interfere no controle da intensidade da pressão exercida sobre a lixa. Porém equipamentos de medição e controle do avanço com elevada precisão são extremamente caros (PORTO, 2004) o que implicou na necessidade de desenvolvimento de uma solução alternativa para evitar o desgaste excessivo na ponta do capilar.

Com a finalidade de minimizar este problema, eliminou-se o controle preciso sobre o avanço em “Y” através da definição de um valor baixo para V_c , reduzindo assim, a intensidade no lixamento pelo abaixamento da potência de corte.

A grandeza V_c pode ser expressa em função da velocidade angular “ w ” e do raio “ r ” conforme equação 10.

$$V_c = w \cdot r \quad (10)$$

Ao se admitir um valor de “ r ” bastante pequeno para “ w ” constante, V_c foi reduzido e conseqüentemente a intensidade da operação de lixamento também. A velocidade angular da lixadeira foi medida com auxílio de um tacômetro óptico da marca Microtest modelo F45 e apresentou valor de $418,87 \text{ rad.s}^{-1}$ equivalente a uma frequência de rotação de 66,67 Hz. Já o

valor de “r” padronizado após testes preliminares foi de 5 mm, implicando em um valor de aproximadamente 0,33 m/s para V_c . Nesta etapa o aproveitamento foi de 90%.

Após a realização das etapas para obtenção do sensor a taxa de aproveitamento global referente ao método proposto variou de 27,0 % a 45,5 % dependendo da forma de esticamento e tensão utilizada para obtenção da ponta. Foram testadas todas as combinações possíveis de tratamentos conforme Tabela 7.

Tabela 7 - Taxa de aproveitamento de sensores em função da rota de fabricação.

Esticamento com anteparo			Esticamento sem anteparo		
Tensão para obtenção da ponta			Tensão para obtenção da ponta		
2,50 V	2,75 V	3,00 V	2,50 V	2,75 V	3,00 V
27,00%	40,50%	36,00%	29,70%	44,55%	39,60%

O tempo médio para produção de um sensor foi de 18,5 minutos para um operador treinado.

6.4 Software para detecção automática da posição do menisco

Ao analisar a imagem sobre o menisco foi possível identificar a interface entre o fluido sensor (óleo) e a solução aquosa. Tal alteração de contraste gerou um ponto de ocorrência passível de monitoramento, semelhante às soluções desenvolvidas por Crossgrove e Duranchko (1986) e Bücner e colaboradores (1987). A Figura 34 mostra o ponto de detecção do menisco e o mapa de contraste ao longo da reta desenhada sobre o eixo imaginário do capilar (verde).

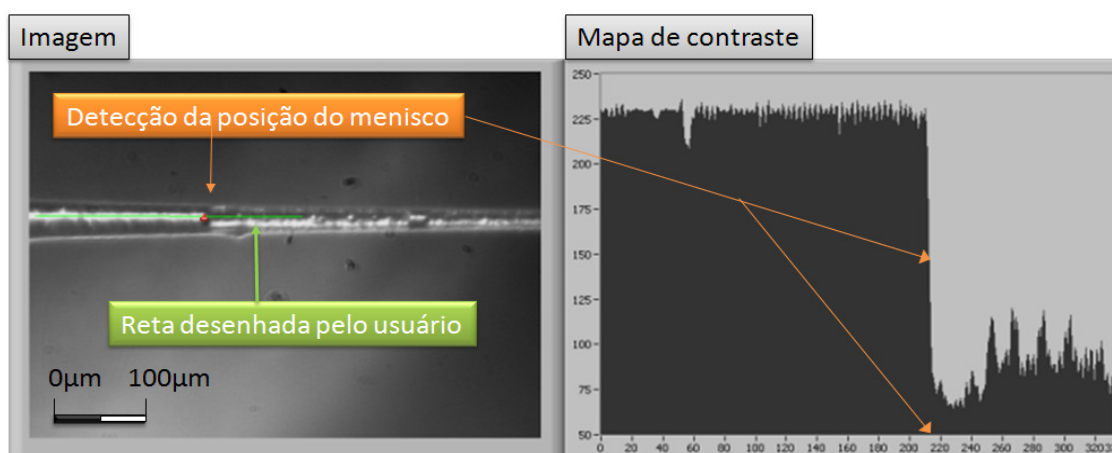


Figura 34: Posição do menisco dentro do capilar para temperatura e pressão constantes.

O sinal proveniente da posição do menisco a temperatura e pressão constantes foi capturado a uma taxa de amostragem de 33,33 ms e 900 pontos foram catalogados. O sinal capturado sem filtro apresentou média de 0,004 pixel, desvio padrão de 0,5133 pixel, variância igual a 0,2635 pixel² e amplitude de 3,675 pixels. Com a aplicação do filtro com média móvel para 5 iterações o sinal médio foi de 0,004 pixel, desvio padrão de 0,1715 pixel, variância igual a 0,0294 pixel² e amplitude de 1,443 pixels. A redução de ruído é notável e o gráfico da Figura 35 mostra a sobreposição dos sinais, sem filtro e com filtro.

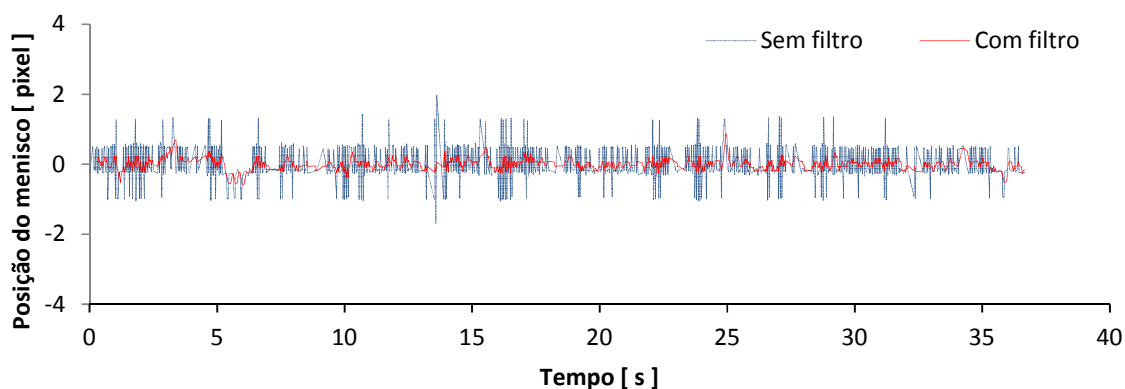


Figura 35: Gráfico da posição do menisco em função do tempo para temperatura e pressão constantes. Sinal de ruído sem filtro em azul e após o tratamento com filtro de média móvel para 5 iterações em vermelho.

Após a aplicação do filtro a amplitude do ruído foi reduzida em 60,73%.

Com a tensão na fita resistiva igual a 0,0 V, foi medida a influência da temperatura do meio ambiente sobre a posição do menisco por um período de 45 minutos.

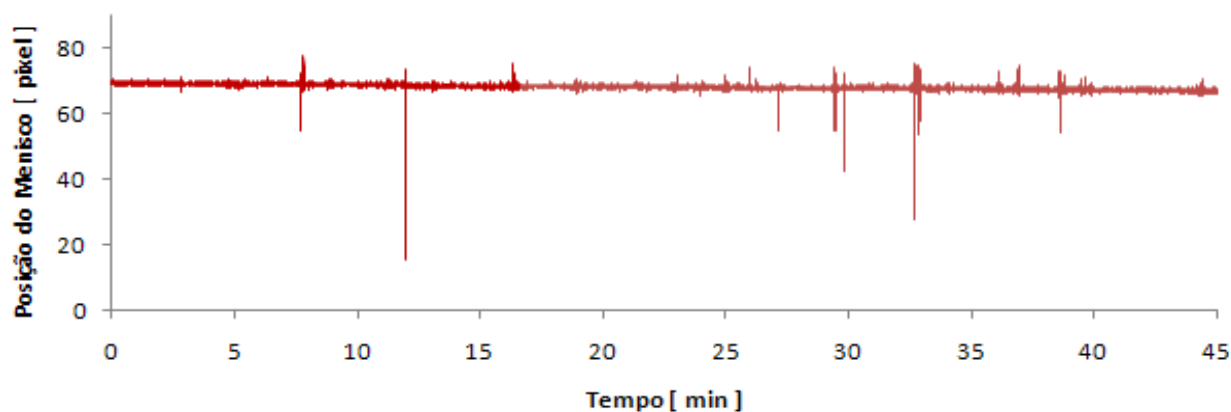


Figura 36 - Gráfico da posição do menisco em 45 minutos de monitoramento contínuo.

O valor médio da posição do menisco foi de 68,28 pixels, com desvio padrão de 0,99 pixel. As variações bruscas observadas no gráfico são provenientes de vibrações mecânicas transmitidas ao equipamento.

6.5 Software para medidas isovolumétricas

Como o deslocamento do menisco está ligado ao fenômeno de dilatação térmica do óleo, há uma dependência entre a potência elétrica fornecida à fita resistiva, calor transferido entre a fita e o fluido e o deslocamento do menisco (PESSOA, 1999; BERTICCI NETO 2006). A Figura 37 demonstra a resposta da planta às diferentes entradas degrau.

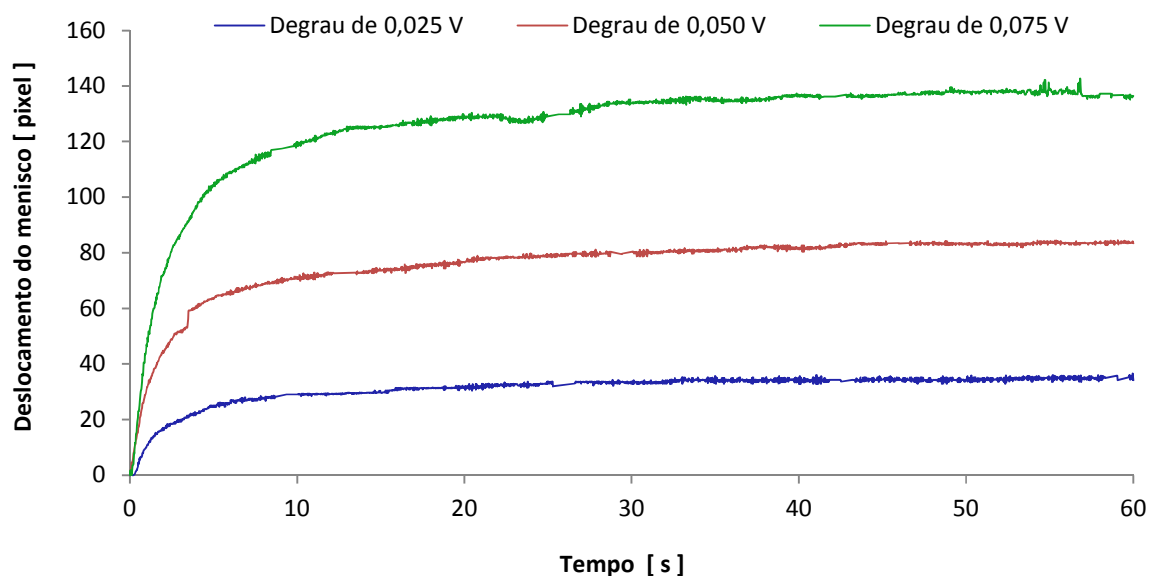


Figura 37: Resposta da planta a degraus sucessivos de 0,025 V, 0,050 V e 0,075 V, com valor inicial de tensão igual a 0,9 V.

O gráfico da Figura 38 mostra o sinal de resposta da planta sem filtro e com filtro (5 médias) a uma entrada degrau no valor de 0,015 V. Foi possível visualizar que não houve defasagem significativa entre o sinal sem filtro e com filtro para resposta transitória.

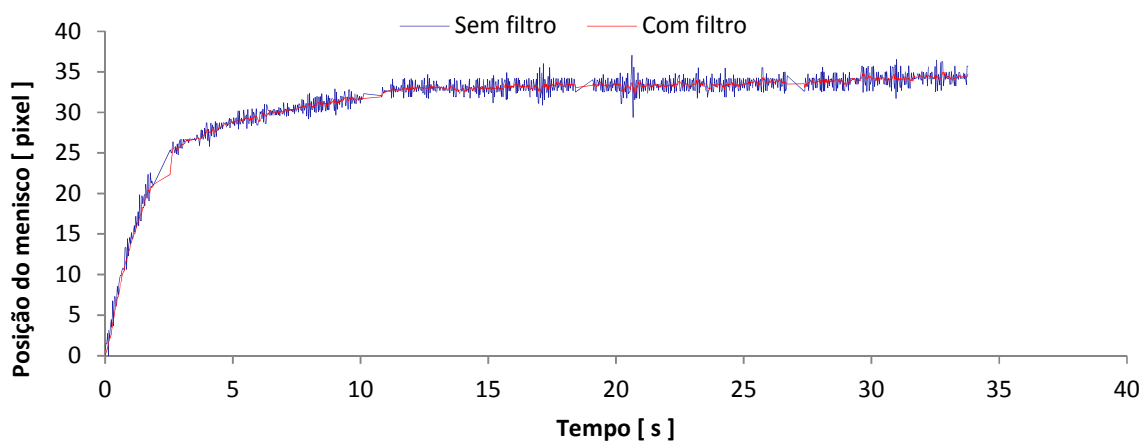


Figura 38: Resposta da planta a degrau de 0,015 V com valor inicial de tensão igual a 1,000 V.

Os valores médios para constante de tempo e ganhos da planta encontrados foram de 3,33 [s] e 3645 $\left[\frac{\text{pixel}}{\text{V}} \right]$ respectivamente. A equação 27 representa a função transferência da planta.

$$G(s) = \frac{3645}{3,33 \cdot s + 1} \quad (27)$$

A figura 39 representa a sobreposição dos sinais de resposta da planta sem filtro e resposta simulada do sistema conforme equação “21” encontrada.

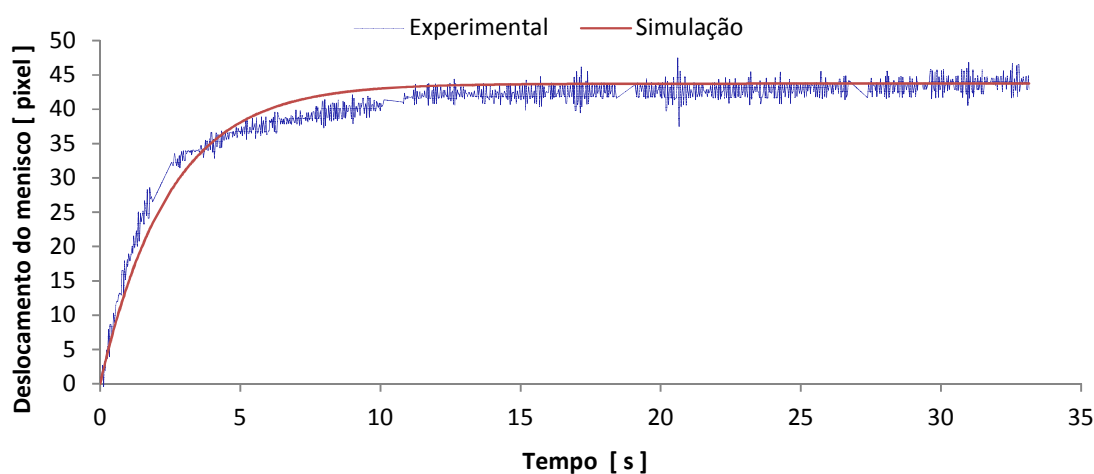


Figura 39: Resposta experimental da planta a uma entrada degrau de 0,025 V (em azul) e resposta simulada conforme FT característica.

Com os valores do ganho e constante de tempo de resposta da planta definidos (equação 27) foi possível determinar os parâmetros do controlador pela aplicação das equações 16 e 17. Para um tempo de acomodação de 30 segundos e aceite de erro de até 2% em relação ao regime estacionário a constante de integração “ T_i ” encontrada foi de 4,335 e o ganho proporcional “ K_p ” foi de $2,133 \times 10^{-4}$.

O gráfico da Figura 40 mostra a relação entre a resposta experimental do sistema controlado com PI sugerido e a resposta simulada para uma entrada degrau de deslocamento.

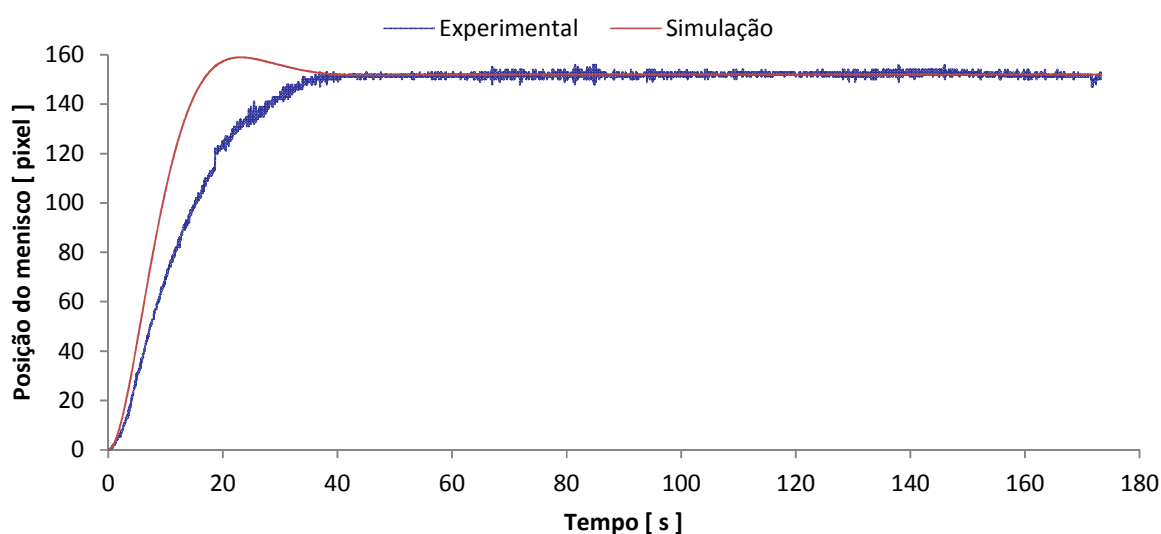


Figura 40: Resposta experimental da planta controlada com PI proposto (em azul) e resposta simulada conforme equação 21.

Para valores de tempo superiores a 32,7s, o gráfico da Figura 38 nos permite visualizar a estabilidade do sistema real ao ser comparado à simulação.

A Tabela 8 foi construída com a finalidade condensar as informações referentes às medidas de desempenho do sistema simulado e real.

Tabela 8: Quadro comparativo do desempenho simulado e real para controlador “PI” proposto.

Medida de desempenho	Valor desejado	Valor real
Máxima ultrapassagem percentual	4,6 %	1,7 %
Tempo de Acomodação a (2%)	30 s	32,7 s

O valor da máxima ultrapassagem percentual apresentado pelo sistema real foi inferior ao valor simulado demonstrando que o sistema real apresenta grau de amortecimento um pouco maior que o sugerido pelo critério ITAE, por volta de 0,79 conforme gráfico da Figura 28. Tal fato contribuiu positivamente para estabilidade do sistema.

Já a diferença entre os tempos de acomodação foi de 9 %, porém este fato não implica em desqualificação dos parâmetros de desempenho encontrados para o controlador “PI”, visto que o valor de 30 segundos foi arbitrado e 32,7 s ainda é um tempo razoável para obtenção do valor de turgor.

Para determinação do valor de turgor foi incorporado ao software a equação 26 com o valor de “a” definido pela inclinação da reta de calibração, conforme Figura 41.

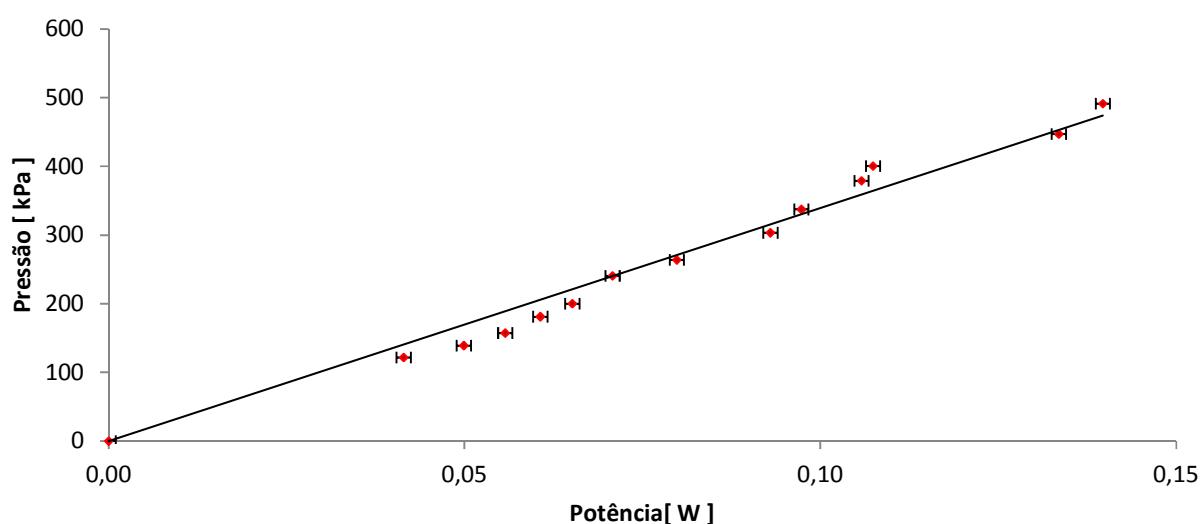


Figura 41: Gráfico da relação entre pressão e potência fornecida ao sistema ($P = 3392,4 \times P_{OT}$, $R^2 = 0,9778$).

A barra de erro vertical dos pontos do gráfico acima foi desconsiderada, pois o maior valor de erro para média de 200 amostras por ponto foi de 0,012 kPa.

Após a determinação da relação “Pressão x Potência Fornecida” o software “DETEC.b” sofreu alterações em seu código para desempenhar a nova rotina de cálculo do turgor. A partir deste momento o software recebeu o nome de “ST.aut”.

6.6 Medição automática do turgor em células de cebola (*Allium cepa* L.)

Para verificar o desempenho prático do software, um exemplar de cebola (*Allium cepa* L.) foi puncionado e em seguida foram registrados o gráfico da variação do turgor em função do tempo e o gráfico da variação da posição do menisco também em função do tempo, conforme Figura 42.

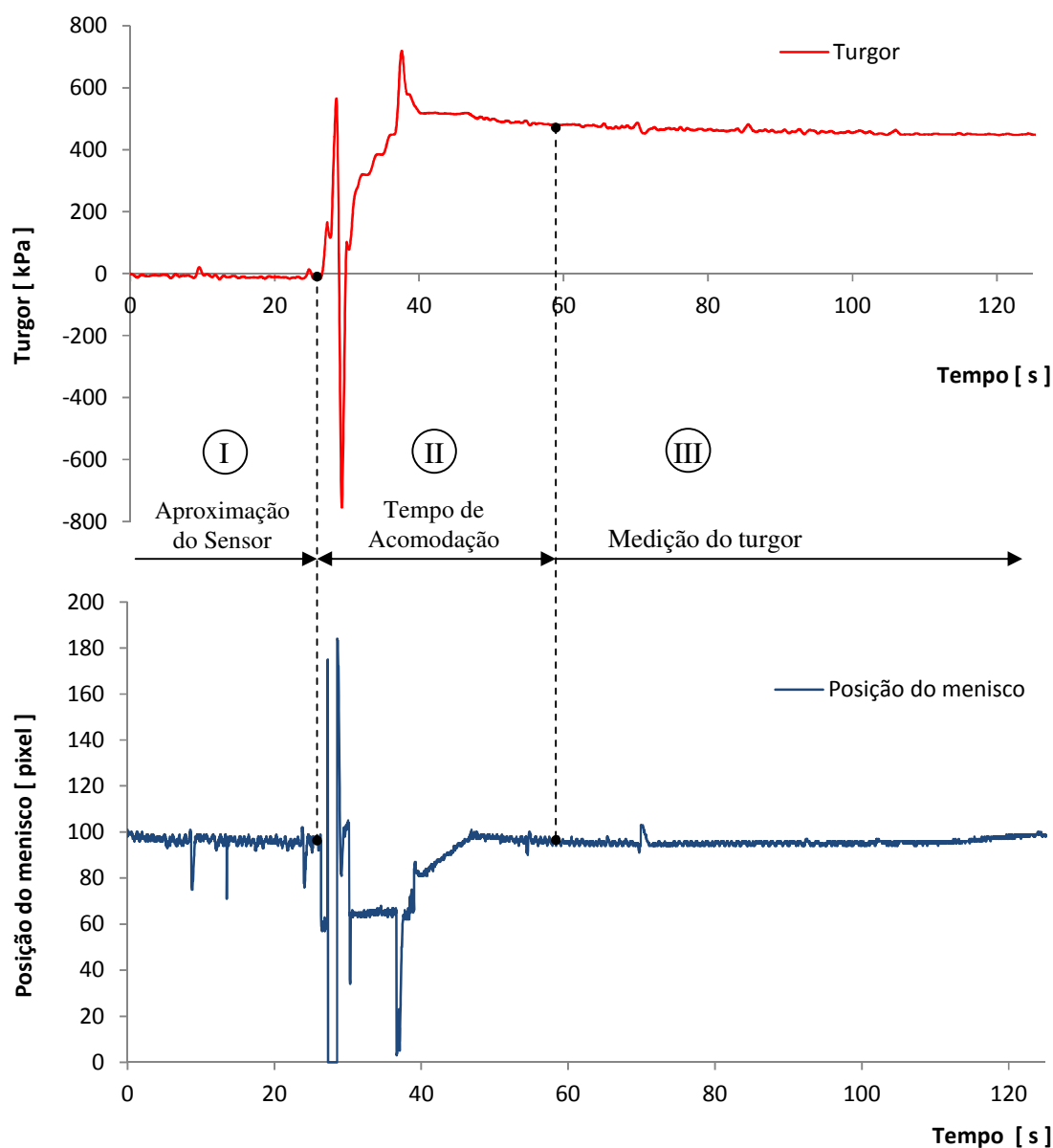


Figura 42: Gráfico da medição do turgor em célula de cebola (*Allium cepa* L.) (vermelho) e gráfico da posição do menisco durante a medição do turgor (azul).

O intervalo “I” representado no gráfico acima corresponde ao tempo que o operador levou para puncionar a amostra após ter iniciado a rotina de medição do turgor. O valor deste período está sujeito à conveniência do operador. Também é possível observar que o valor de turgor esteve sempre próximo de 0 kpa durante esta etapa, como esperado.

Já o intervalo “II” representa o tempo de acomodação para retorno do menisco à sua posição inicial com erro de 2%. No caso apresentado, o tempo de acomodação foi de aproximadamente 33 segundos. Sendo assim, o tempo necessário para realização de uma medida de turgor com a amostra já posicionada equivale a soma das durações de “I” e “II”. Durante o intervalo “II” foi observado certo grau de instabilidade do sistema devido à perda momentânea do ponto identificador do menisco. Como o aumento utilizado no estereoscópio foi de 100 vezes, ao se puncionar a célula, o menisco saiu do campo de visão provocando instabilidade. Este problema poderia ser resolvido substituindo-se o sistema óptico por outro com campo de visão mais abrangente. A redução da ampliação não é recomendada, pois seria alterada a relação entre pixels e comprimento correspondente, contribuindo para um aumento do erro.

O intervalo “III” mostrou boa estabilidade durante a medição do turgor e apresentou um desvio padrão de 9,58 kPa, o que equivale a 2% do valor médio (460,8 kPa).

Em seguida o software “ST.aut” foi utilizado para verificar o comportamento do valor do turgor celular em cebolas (*Allium cepa L.*). Neste experimento foi determinado o efeito do tamanho da lesão por punção no turgor celular em função da distância de medição em relação a lesão. Os valores médios de pressão de turgor celular na cebola sob diferentes tipos de lesão (furos com diâmetros de 3 mm, 7mm e 15 mm) podem ser observados na figura 43.

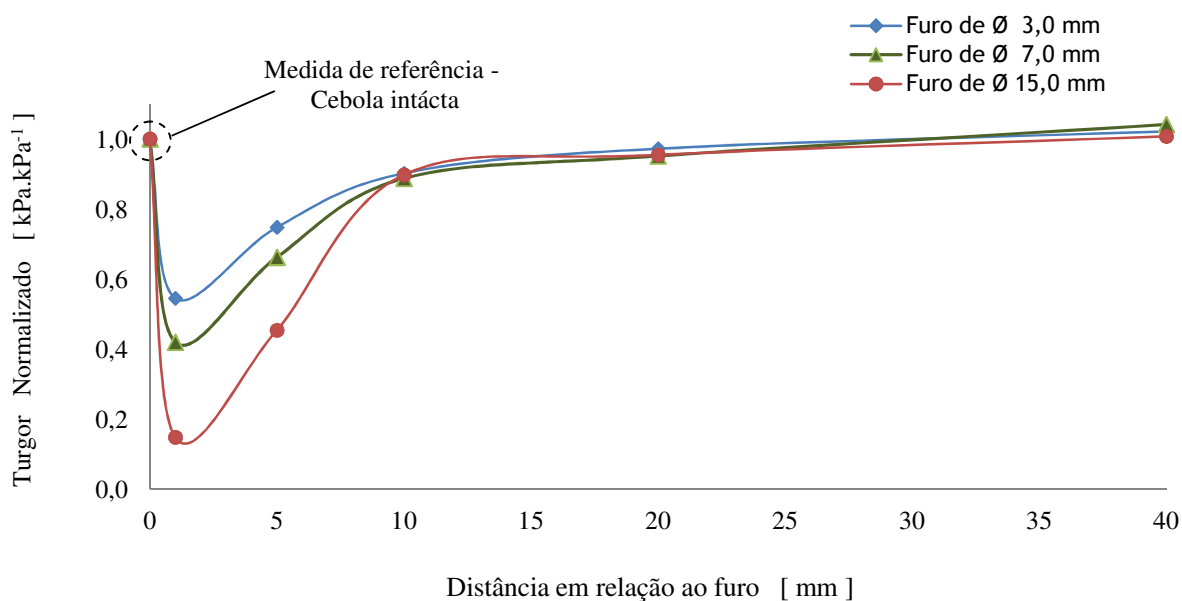


Figura 43: Representação do comportamento do valor do turgor celular em função do tamanho da lesão por punção e da distância de medição em relação a injúria em cebola (*Allium cepa L.*).

As medições a 1mm e a 5mm da lesão revelaram uma grande queda no valor do turgor em relação à medida de referência, com a cebola ainda intacta. A 1 mm de distância da lesão a queda no valor de turgor foi de 45,6%, 58 % e 85,3% para furos de 3 mm, 7 mm e 15 mm respectivamente. Este resultado mostra que a região próxima à lesão sofre grande influência da evaporação causada pela exposição do tecido à atmosfera e esta influência é tão maior quanto for o tamanho da lesão. Ao promover um aumento da evaporação, as células expostas pela lesão sofrem um aumento da concentração de solutos. Este desequilíbrio influencia as células vizinhas por osmose. Com isto a turgescência da vizinhança diminui para contrabalançar o efeito do potencial osmótico. A partir de 10 mm em relação à borda da lesão há uma sensível redução deste efeito, além de uma equalização da taxa de variação de turgor entre todos os casos.

7 Conclusões

- Em testes preliminares para esticamento dos capilares verificou-se que a aceleração e a desaceleração do movimento para obtenção dos mesmos, influenciaram na regularidade do diâmetro ao longo do capilar.
- A hipótese de adoção do valor “r” pequeno implicou em resposta satisfatória visto que apenas 10% dos capilares ficaram fora de especificação, porém o controle preciso do avanço em “Y” e um sensor para detecção do contato entre capilar e lixa podem de grande importância para diminuição das perdas nesta etapa.
- O método para obtenção de capilares proposto apresentou taxa máxima de aproveitamento de 45,5 % para capilares esticados manualmente sem anteparo limitador de curso e com 2,75 V para obtenção da ponta com o *puller*. Isto mostra que a metodologia proposta apresentou melhora significativa, visto que os valores presentes na literatura disponível eram de aproximadamente 5%.
- A forma construtiva da ST melhorou sensivelmente o alinhamento relativo entre as partes agilizando o processo de troca de sensor e posicionamento da amostra para medição.
- Medições com o software “MED”, apresentaram erros pequenos, da ordem de um pixel. O comprimento do pixel foi definido em 0,777 μm .
- O controlador PI aplicado para automação da planta mostrou resposta satisfatória após a sintonização dos parâmetros de ganho proporcional e constante de tempo de integração. Os parâmetros ajustados apresentaram valores de $2,133 \times 10^{-4}$ e 4,335 respectivamente.
- O conjunto composto, formado por Sonda Termoelástica e software “ST.aut”, permitiu a medição automática do turgor em células de cebola (*Allium cepa L.*) com erro de 2%.
- A uma distância de até 10 mm da borda da lesão por puncionamento a taxa de recuperação do valor do turgor na cebola foi tão maior quanto foi o diâmetro dos furos provocados. A partir de 10 mm em relação à borda da lesão todos os casos apresentaram taxa de variação e valores de turgor próximos, independente do tamanho da lesão.

8 Bibliografia

ACCU-GLASS LCC. **Gas flow control tubes**. Missouri, 2009. 2 p.

ARAÚJO, C.R. **Desenvolvimento de malhas de controle por técnicas de escalonamento de ganhos e lógica fuzzy**. Itajubá. Universidade Federal de Itajubá – MG. 52p. 2009.(Dissertação de mestrado)

BELTRÃO, N.E. de M.; FIDELES FILHO, J.; FIGEUREDO, I.C.M. **Uso adequado de casa-de-vegetação e de telados na experimentação agrícola**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v.6, n.3, p.547-552, 2002.

BERTUCCI NETO, V. **Modelagem e Automação em nova técnica de medida para relações de água e planta**. São Carlos. Universidade de São Paulo. Escola de Engenharia de São Carlos. 159p. 2005.(Tese de Doutorado)

BERTUCCI NETO, V.; PESSOA, J.D.C.; CRUVINEL, P. E.; CALBO, A.G. **Dynamics in measuring of plant intracellular pressure: a control system approach**. In: Congresso Brasileiro de Automação CBA, 12, 1998, Uberlândia, MG. Anais...Uberlândia: UFU, 1998. 4f. CD-ROM.

BERTUCCI NETO, V.; PESSOA, J.D.C.; CRUVINEL, P.E.; CALBO, A.G. **Modelagem e automação de uma sonda termoelástica para medidas de parâmetros relativos a fisiologia vegetal**. Boletim de pesquisa e desenvolvimento. 1ª ed. São Carlos: EMBRAPA Instrumentação Agropecuária, 2006. 27p.

BISTAFA, S.R. **Mecânica dos Fluidos: Noções e aplicações**. 1ª ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2010. 278p.

BLW-BIOLABWARE. **Glass, holders & electrodes**. Santiago, 2008. 170-181p.

BRACEWELL, R. N. **The fourier transform and its applications**. 3 ed. New York. McGraw-Hill Book Company. 1985. P.

BÜCHNER, K.H.; Wehner, G.; Virsik, W.; ZIMMERMANN, U. **Automatic turgor pressure recording in plant cells**. Z Naturforsch, v.42c, p.1143-1145, 1987.

CALBO, A.G. **Aparato para esticar e quebrar capilares empregados em amostragens e em avaliações de pressão e volume.** VI Congresso Brasileiro de Fisiologia Vegetal, Belém, p. 405. 1997.

CALBO, A.G., PESSOA, J.D.C. **A plant growth reanalysis. An extension of Lockhart's equation to multicellular plants.** Revista Brasileira Fisiologia Vegetal, v.6, 83-89, 1994.

CALBO, A. G., PESSOA, J.D.C. **Thermoelastic pressure probe to test the cohesion theory. Liquid expandibility, compressibility and pressure measurements.** Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, Londrina, v.11, p.129-136, 1999.

CAMAROTO, J.A. **Apostila de engenharia do trabalho 2.** São Carlos UFSCar/DEP, 2005. 134 p. Apostila.

CHIAVERINI, V. **Tecnologia Mecânica. Vol.2.** 2ª Ed. São Paulo: Pearson Education, 1986. 388 p.

CANSADO, J.C.A. **Agrilogic: Sistema para experimentação de controle de casas de vegetação.** Escola Politécnica/Universidade de São Paulo. 2003. 118p. Dissertação Mestrado CROPDESIGN. Disponível em <www.cropdesing.com> acessado em abril de 2009.

CROSGROVE, D.J.; DURANCHKO, D.M. **Automated pressure probe for measurement of water transport proprieties of higher plant cells.** Review of Scientific Instruments, v.57, p. 2614-2619, 1986.

CRUZ, G.S. **Apontamentos de fisiologia vegetal.** Coimbra: Universidade de Coimbra, Dep. Botânica, 2006. p. 1-42.

CURTIS, S.E. **Enviromental management in animal agriculture.** AMES: The Iowa State University, 1983.409p.

DINIZ, A.E.; MARCONDES, F. C.; COPPINI, N. L. **Tecnologia da usinagem dos materiais.** 6ª ed. São Paulo: Artliber Editora, 2008. 262 p.

DORF, R.C.; BISHOP, R.H. **Sistemas de Controle Modernos.** 11ª ed. Rio de Janeiro: LTC, 2009. 752p.

- EMBRAPA. PESSOA, J.D.C. TEPROBE. **Solicitação de registro de marca**, proceso 829666117, 2008.
- FERRARESI, D. **Fundamentos de usinagem de metais**. 11^a ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2003. 751p.
- HENKEL LTDA. **Folha de dados técnicos: Super Bonder Original 3g**. 2008. 3 p.
- HAYKIN, S. **Neural Network**. Prentice Hall, Inc, 1999.
- HISAO, T.C. **Plant responses to water stress**. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 24: 519-570, 1973.
- HÜSKEN, D. STEUDLE, E.; ZIMMERMANN, U. **Pressure probe technique for measuring water relations of cells in higher plants**. Plant Physiology, v.61, p.158-163, 1978.
- ICROPERA, F.P.; DEWITT, D.P. **Fundamentos de transferência de calor e massa**. 4^a ed. Rio de Janeiro: LTC, 1998. 494p.
- IIDA, I. **Ergonomia: projeto e produção**. 2^a ed ampliada. São Paulo: Blucher, 2005. 614 p.
- KUO, B. **Sistemas de Controle Automático**. Xx Ed. LOCAL. Prentice Hall do Brasil, 1985. 635p.
- MEIDNER, H.; EDWARDS, M. **Direct measurement of turgor potential of guard cells, I**. Journal of Experimental Botany, v.26, p.319-330, 1975.
- METANOMICS. Disponível em <<http://www.metanomics.de>> acessado em abril de 2009.
- NATIONAL INSTRUMENTS CORPORATION. **Manual de treinamento do LabView™: Básico 1**. 2001. 338p.
- NATIONAL INSTRUMENTS CORPORATION. **LabView™: Basic II: Course manual**. 2000. 282p.
- NUNES, S.P. **O desenvolvimento da agricultura brasileira e mundial e a idéia de desenvolvimento rural**. Boletim Eletrônico: Conjuntura Agrícola. Departamento de Estudos Sócio-Econômicos Rurais. Nº 157, 2007.

OGATA, K. **Engenharia de controle moderno**; tradução: Maya, P. A., [et al.]. 4ª ed. São Paulo: Prentice-Hall do Brasil, 2003. 929p.

OPTRON MICROMECAÂNICA ÒPTICA LTDA. **Posicionadores**. Disponível em: [HTTP://www.optron.com.br/Posicionadores/posicionadores.htm](http://www.optron.com.br/Posicionadores/posicionadores.htm). Acessado em: 30 de outubro de 2010.

PESSOA, J.D.C. **Instrumentações para o estudo das relações água-planta**. São Carlos. Universidade Federal de São Carlos. Centro de Ciências Biológicas e da Saúde. 79p. 1999. (Tese de Doutorado)

PESSOA, J.D.C. **A montagem da Sonda Termoelástica ®**. In: PRADO, C.H.B.A., CASALE, C.A. *Fisiologia Vegetal: Práticas em Relações Hídricas, Fotossíntese e Nutrição Mineral*. São Paulo: Manolo, 2006. p. 1-17.

PESSOA, J. D. C.; CALBO, A. G. **Caracterização do comportamento compressivo-expansivo de amostras fluidas com volume da ordem de micro-microlitros**. In: Simpósio Nacional de Instrumentação Agropecuária, 1., 1996, São Carlos, SP. Anais... São Carlos: EMBRAPA, CNPDIA, 1997.p. 411-415.

PESSOA, J.D.C.; CALBO, A.G. **Pressure measurement using thermal properties of materials**. *Review of Scientific Instrument*, v.75, n6, p. 2213-2215, 2004.

PESSOA, José Dalton Cruz ; CRUVINEL, Paulo e ; CALBO, Adonai Gimenes ; MORAES, J. A. P. V. **Metodologia para caracterização térmica de alguns processos metabólicos**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 7, 1999. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 1999. v. 11. p. 152-152.

PHAL, G.; BEITZ, W.; FELDHUSEN, J.; GROTE, K.H. **Projeto na engenharia: fundamento do desenvolvimento eficaz de produtos, métodos e aplicações**. 6ª Ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2005. 412p.

PORTO, A. J. V. **Usinagem de ultraprecisão**. 1ª ed. São Carlos: Rima, 2004. 276p.

ROSÁRIO, J. M. **Princípios de mecatrônica**. 1ª ed. São Paulo: Prentice-Hall do Brasil, 2005. 356p.

SILVA, A.S. **Fundamentos de controle clássico**. Santa Catarina UFSC/EEL-DAS, 2008. 202 p. Apostila.

SHIGLEY, J.E., MISCHKE, C.R., BUDYNAS, R.G. **Projeto de Engenharia Mecânica**; tradução João Batista de Aguiar, José Manoel de Aguiar. – 7ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2005. 960p.

SLATYER, R. O. **Plant-water relationships**. Academic Press Inc., 1967. 366p.

SLAVIK, B. **Methods of studying plant water relations**. Prague: Academy Publishing Company, 565 p. 1974.

STEUDLE, E. **Pressure probe techniques: basic principles and application to studies of water relations at the cell, tissue and organ level**. In: **Water deficits: plant responses from cell to community**. Eds.: SMITH, J.A.C.; Griffiths, H. Bios scientific publishers Ltd. Oxford. UK, p.5-36, 1993.

STEUDLE, E.; ZIMMERMANN, U. **Hydraulische Leitfähigkeit von Valonia Utricularis**. Z Naturforsch B, v.26b, p.1302-1311, 1971.

STEIDLE NETO, A. J. **Avaliação do Sistema 1-WIRE™ para aquisição de dados de temperatura em instalações agrícolas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 110p. 2003. (Tese de Doutorado)

SWART, B.; SHASMAN, M.; GUSTAVSON, P.; HOLLINGWORTH, J. **Borland C++ builder 6 Developer's Guide**. 1ª ed. Indiana: Sams, 2002. 1097p.

TERUEL, B. J. **Controle automatizado de casas de vegetação: Variáveis climáticas e fertigação**. Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, v 14, n.3, p.237-245, 2010.

VIDA, J. B.; ZAMBOLIM, L.; TESSMANN, D. J.; BRANDÃO FILHO, J. U. T. Jaqueline R. Verzignassi, J. R.; Caixeta, M. P. **Manejo de doenças de plantas em cultivo protegido**. Fitopatologia Brasileira, v.29, n.4, p.355-372, 2004.

WONG, E. S.; SLAUGHTER, D. C.; WADA, H.; MATTHEWS, M. A.; SHACKEL, K. A. **Computer vision system for automated cell pressure probe operation**. Research Paper:

AE-Automation and Emerging Technologies - Biosystems Engineering v 103. p.129–136, 2009.

ZIMMERMANN, U. RÄDE, H.; STEUDLE, E. **Kontinuierlich Druckmessung in Pflanzenzellen**. Naturwissenschaften, Belfast, v. 56, p. 634, 1969.

ZIMMERMANN, U.; STEUDLE, E.; LELKES P.I. **Turgor pressure regulation in Valonia utricularis: effect of cell wall elasticity and auxin**. Plant Physiology, v.58, p.608-613, 1976.

9 Apêndice – A Software

O desenvolvimento da programação descrita neste trabalho foi realizada em ambiente LabVIEW (acrónimo para Laboratory Virtual Instrument Engineering Workbench). LabVIEW é uma linguagem de programação gráfica que utiliza ícones, em vez de linhas de texto, para criar aplicações. Em contraste às linguagens de programação baseadas em texto, onde as instruções determinam a execução do programa, o LabVIEW utiliza programação baseada em fluxo de dados, onde o fluxo dos dados determina a execução (NI, 2001).

Os programas em LabVIEW são chamados de instrumentos virtuais ou, simplesmente, VI's. São compostos pelo painel frontal, que contém a interface, e pelo diagrama de blocos, que contém o código gráfico do programa. O programa não é processado por um interpretador, mas sim compilado. Deste modo a sua performance é comparável à exibida pelas linguagens de programação de alto nível (NI, 2000).

Este apêndice contém apenas o código gráfico do programa e sub-rotinas.

A subrotina de aquisição de imagem foi representada pela figura 44.

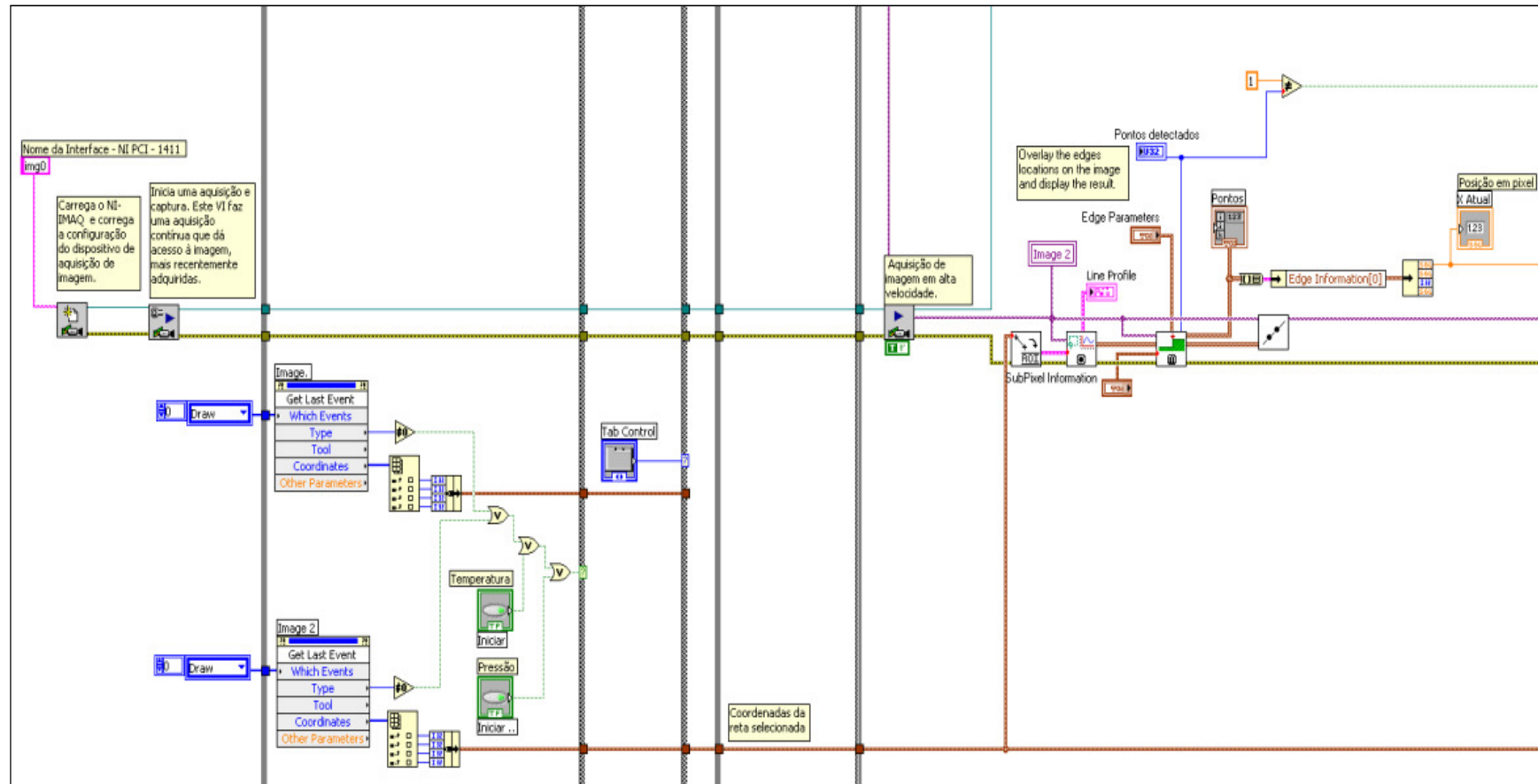


Figura 44: Sub-rotina de aquisição de imagem.

A figura 45 representa a sub-rotina utilizada no cálculo da dimensão da reta selecionada (em μm e pixel), ângulo da reta e posição do menisco óleo/citoplasma.

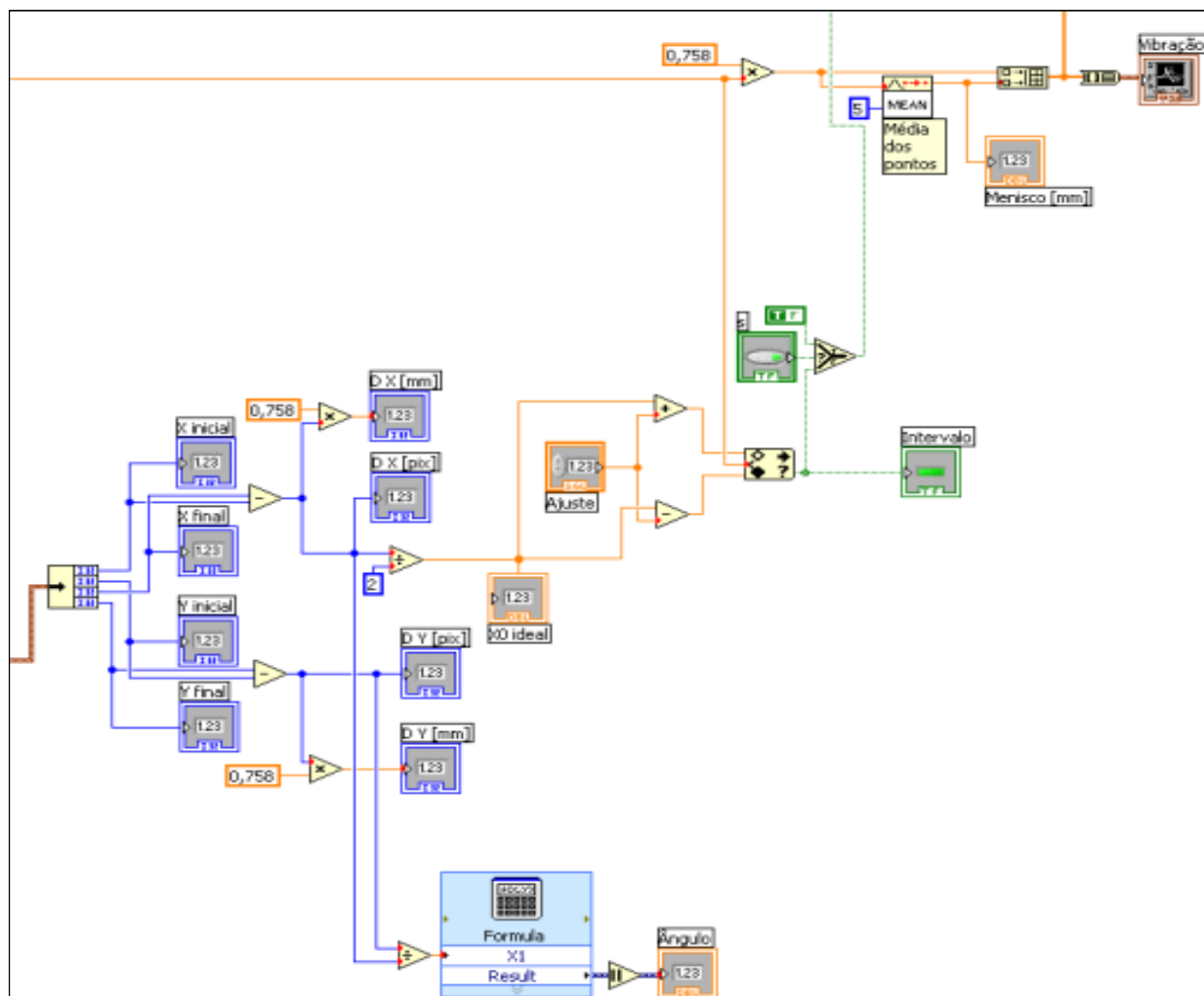


Figura 45 : Sub-rotina para cálculo do comprimento da reta selecionada (em m e pixel), ângulo e posição do menisco óleo/citoplasma sobre a reta.

A figura 46 representa a sub-rotina de controle da posição do menisco durante a medida automática de turgor.

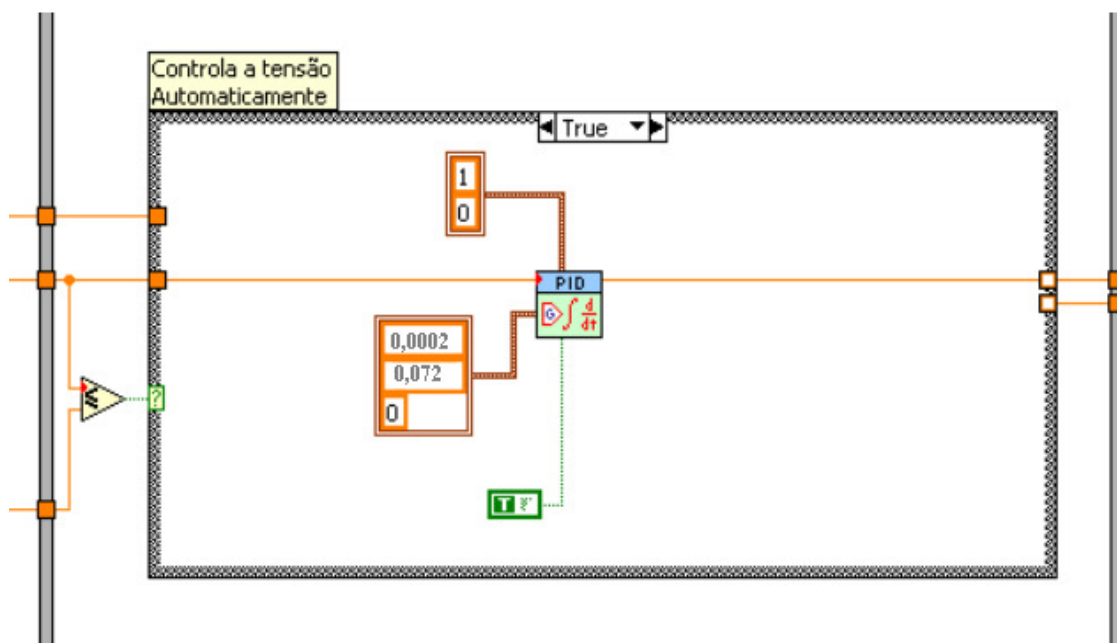


Figura 46: Sub-rotina de controle da posição do menisco durante a medida automática de turgor.

A sub-rotina representada pela figura 47 é responsável pela determinação da pressão de turgor durante a medição.

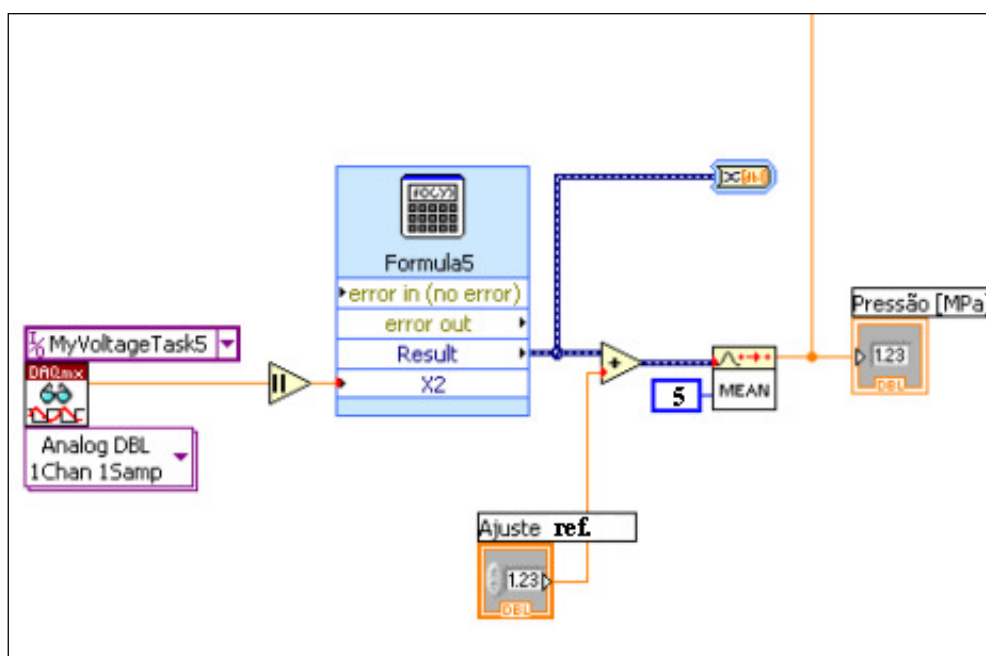


Figura 47: Sub-rotina de cálculo da Pressão de turgescência celular.

A figura 48 mostra a sub-rotina de gravação de dados em arquivo [.txt].

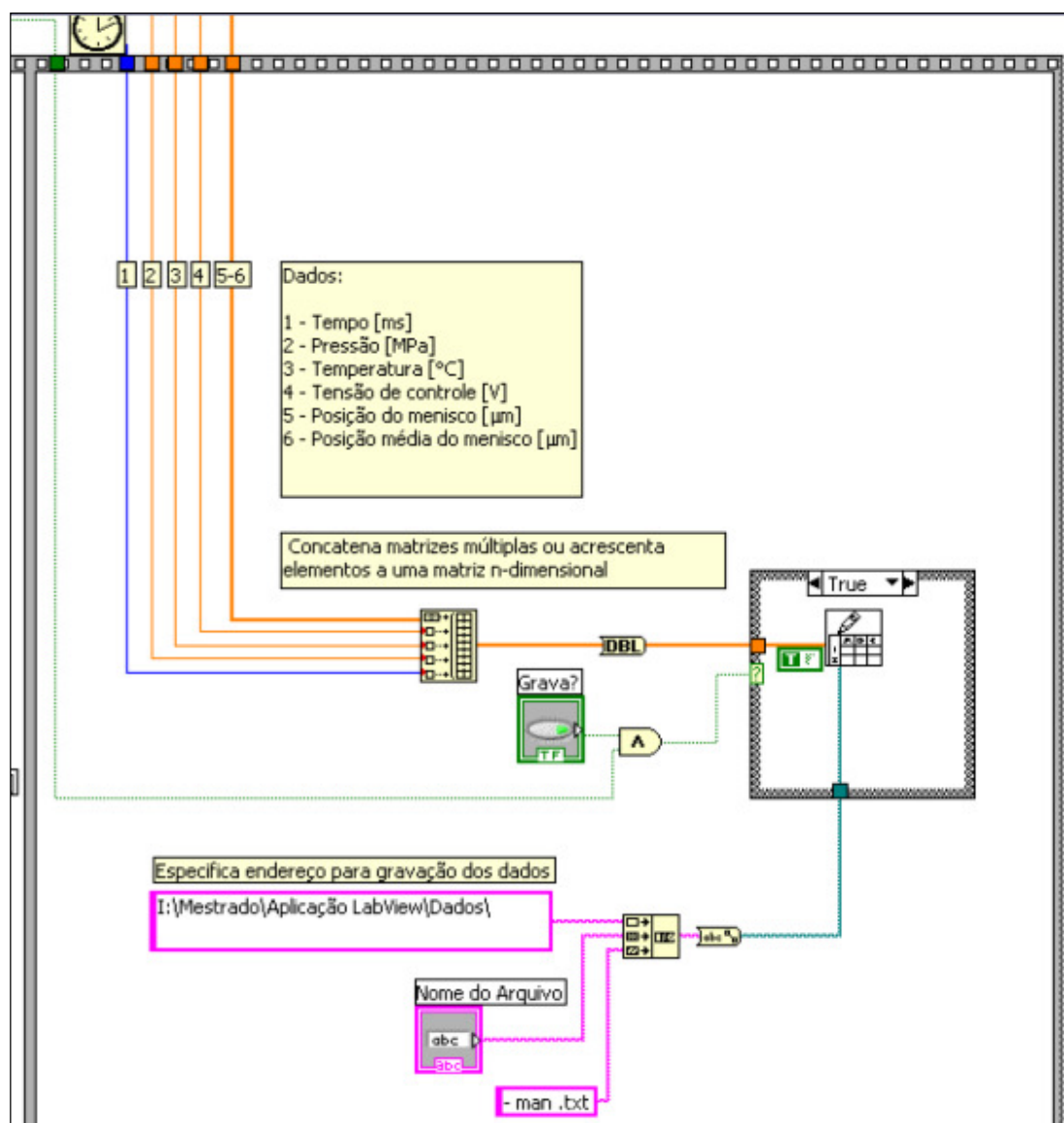


Figura 48: Sub-rotina de gravação de dados em arquivo [.txt].