



República Federativa do Brasil
Ministério da Indústria, Comércio Exterior
e Serviços
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) PI 1107358-6 B1

(22) Data do Depósito: 30/12/2011

(45) Data de Concessão: 26/09/2017



(54) Título: DISPOSITIVO DE MEDIÇÃO DE PRESSÃO E CONTROLE DE VAZÃO

(51) Int.Cl.: G01L 1/02; G01L 1/04

(73) Titular(es): EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA

(72) Inventor(es): ADONAI GIMENEZ CALBO

Relatório Descritivo de Patente de Invenção: "DISPOSITIVO DE MEDIÇÃO DE PRESSÃO E CONTROLE DE VAZÃO".

CAMPO DA INVENÇÃO

A invenção refere-se a um sistema para medir a pressão de turgescência celular que funciona como um dendro-turgômetro, para medir a pressão de turgescência de caules, e também como firmômetro, para medir a firmeza de frutas e hortaliças, podendo ser aplicado em condições de campo, laboratório, casas de vegetação, entre outras. O sistema aproveita-se da pressão e da elasticidade volumétrica do caule das plantas para obter a resposta hídrica e propiciar a leitura da pressão de turgescência celular, e a leitura de pressão é feita com aquisição contínua de dados. Para automação de gotejadores, com vazão controlada pela turgescência celular, o gotejamento é completamente obstruído sempre que a pressão de turgescência celular se torna maior que a pressão de entrada da água no gotejador. Para a leitura da pressão de turgescência celular, em pós-colheita, no denominado firmômetro, a força de aperto pode ser de aplicação manual, em instrumento portátil, ou de aplicação mecânica, em instrumento estacionário.

FUNDAMENTOS DA INVENÇÃO

Um sistema eficiente de irrigação requer informações precisas sobre as necessidades específicas das plantas em diferentes estádios de desenvolvimento, sob diferentes condições climáticas. Muitas técnicas são conhecidas, como exemplo os sensores de umidade que são usados para medir a umidade no solo diretamente (tensiômetros). No entanto, controlar a irrigação de acordo com o que a planta necessita (através da medição do turgor, que é controlado pela transpiração da planta), seria muito mais eficaz do que irrigar de acordo com o valor da tensão de água no solo, pois os tensiômetros podem apresentar algumas desvantagens, não medindo corretamente se estes não tiverem uma manutenção constante, constituindo este um dos principais empecilhos para a automação, além da variação obtida em solos com texturas diferentes, e muitas vezes não corresponde à realidade da necessidade de água para a planta.

A pressão de turgescência de uma planta é conhecida como a diferença de pressão entre o interior e o exterior da parede de uma célula. Para um dado conteúdo celular em solutos a pressão de turgescência diminui à medida que o potencial hídrico da célula diminui (fica mais negativo). As informações mais confiáveis sobre o estado

da água podem ser obtidas se a pressão de turgor nas células da planta é medida diretamente. Vários tipos de dispositivos de medição de pressão turgor já foram descritos. O instrumento de referência para a medição da pressão de turgescência celular de plantas é a sonda de pressão celular (Husken et al, *Plant Physiol.* v. 61, p.158-163, 1978). Neste sistema, um micro capilar cheio de óleo mineral, de baixa viscosidade, é introduzido na célula. O menisco água/ óleo é empurrado para trás e a pressão de turgescência celular é medida, na sequência, logo após fazer-se o menisco água/óleo voltar à posição inicial, mediante a aplicação do necessário aumento da pressão celular com o auxílio de um êmbolo.

10 Outro método de referência é mediante o uso da sonda termoelástica do documento PI9906212-7, que se utiliza da medição as propriedades de expansibilidade e de compressibilidade dos líquidos para medição da pressão de turgescência celular. Neste sistema, o fluido utilizado é um óleo mineral de baixa viscosidade contido no interior de um capilar com bulbo de vidro hermeticamente selado na base. O sistema
15 funciona como um sensor em que se mede a pressão mediante a elevação de temperatura para fazer com que o menisco formado na interface óleo/água e próximo à ponta do capilar, retorne à posição inicial de referência, quando, então, se toma a leitura da pressão de turgescência celular. Além da pressão de turgescência, a sonda termoelástica possibilita medições, por simples contato, de pressões negativas no
20 interior dos vasos do xilema e até mesmo de pressões negativas em células do tecido dermal intacto (Calbo & Pessoa, *R. Bras. Fisiol. Veg.* v.11, p. 129-136, 1999; Pessoa & Calbo, *Eng. Agric.*, v.21, p.210-217, 2001).

A sonda de pressão celular tradicional de Husken et al (1978) e a sonda termoelástica do documento BR9906212-7 são, no entanto, instrumentos laboratoriais
25 de uso sob microscópio, razão pela qual não reúnem praticidade adequada para aplicações rotineiras e rápidas necessárias para avaliações pré e pós-colheita do amadurecimento, da senescência e da hidratação das frutas e hortaliças. Adicionalmente, também não encontram aplicações para fins de automação de sistemas de irrigação de forma a atender as demandas hídricas das culturas.

30 Os métodos práticos de avaliação de firmeza, por outro lado, têm envolvido simulações mecânicas das impressões do homem, enquanto manuseia, morde, arranha, apalpa, fura e quebra os produtos a serem avaliados. Dentre os métodos para avaliação

de firmeza incluem-se: (a) força de penetração de ponteiros (Journal of The American Society for Horticultural Science, v. 103, p.70-73, 1978); (b) medição da deformação linear causada por uma força especificada ou medição da força necessária para causar uma deformação linear especificada (HortScience, v. 8, p.391-392, 1973); (c) medição da superfície do órgão amassada pela aplicação de uma força conhecida ou da força necessária para amassar uma área especificada (Vitis, v.20, p.15-21, 1981; Scientia Horticulturae, v.25, p.129-136, 1985; Horticultura Brasileira, 12:14-18, 1995), aqui denominado método de aplanção.

A medida da pressão celular de vegetais por aplanção, sem a introdução de capilares no seu interior, também já foi obtida por tonometria de micro esfera descrito no documento US6277637. Neste sistema, uma microesfera de vidro é pressionada contra uma célula dermal aplicando-se uma força conhecida, sendo a área de contato determinada de acordo com o diâmetro amassado da célula contra a micro-esfera, com auxílio de microscópio. A razão entre a força aplicada e área amassada é uma estimativa da pressão de turgescência celular, caso a célula dermal tenha paredes finas e flexíveis. A tonometria de micro esfera, assim como as sondas de pressão celular de micro capilar, é um método microscópico e laboratorial pouco prático.

A avaliação quantitativa da firmeza também pode ser feita com instrumentos que analisam diversas outras propriedades físicas. Assim, por exemplo, foram desenvolvidos instrumentos como o do documento US6643599, no qual uma ponteira é utilizada sob força constante ou sob velocidade constante, enquanto interage e perfura o órgão. Trata-se de um instrumento que gera resultados precisos, mas que não estão especificamente relacionados à turgescência celular.

Bernstein & Lustig (Vitis, v.20, p.15-21, 1981; Scientia Horticulturae, v.25, p.129-136, 1985) foram pioneiros no uso do método de aplanção para medir a pressão de turgescência em bagas de uva e em outros frutos suculentos, mas que pudessem ser tratados como esfera envolta por uma membrana. Calbo & Calbo (Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal, v.1, p.41-45, 1989) estenderam os fundamentos deste método para que também pudesse ser utilizado para órgãos convexos com tecido dermal regular e parenquimatoso, como são grande parte das frutas e das hortaliças. Posteriormente, modelos simples de aplanadores e um procedimento para avaliar a área amassada com o uso de paquímetro foram desenvolvidos (Horticultura Brasileira, v.12, p.14-18, 1995).

As deformações celulares reversíveis e irreversíveis durante medições de firmeza pelo método de aplanção foram posteriormente evidenciadas (Horticultura Brasileira, v. 76, p.365-370, 1995; Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.35, p.2429-2436, 2000) e algumas relações matemáticas entre pressão de turgescência celular e pressão de aplanção, de acordo com a fração de volumes gasosos intercelulares nos tecidos, foram estabelecidas por Calbo & Nery (Brazilian Archives of Biology Technology, v. 44, p.41-48, 2001). O método de aplanção, conforme descrito por Calbo & Nery (Horticultura Brasileira, v.12, p.14-18, 1995) e pelas demais técnicas assemelhadas e consideradas neste parágrafo, se prestam apenas para a medição de firmeza de órgãos convexos com tecido dermal regular e parenquimatoso. Assim, órgãos com irregularidades e órgãos segmentados dificilmente podem ser medidos de maneira prática com estes instrumentos.

Com o método de aplanção (Horticultura Brasileira, v.12, p.14-18, 1995) pode-se acompanhar a perda de firmeza causada pela desidratação de diversos produtos, como raízes tuberosas, tubérculos e frutos. Estas medidas podem ser repetidas no mesmo órgão, sem danificá-lo, e por isto este método tem sido utilizado para a seleção de genótipos em programas de melhoramento vegetal. Assim, Andrade et al (Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.40, p.555-561, 2005) desenvolveram um critério para a determinação da meia vida de conservação de frutos de tomate com o intuito de selecionar cultivares com maior capacidade de armazenamento. A fórmula utilizada neste e em outros estudos orientados pelo professor Wilson Maluf na Universidade Federal de Lavras no Brasil é do tipo:

$$Y = B + A (1/2)^{-t/t_{1/2}} \quad (\text{eq. 1}),$$

onde Y é a pressão de turgescência ou firmeza por aplanção; B é um valor basal ou assintótico de firmeza dependente do genótipo, valor que Andrade et al (2005) tomou como zero; A é o valor inicial da firmeza no tempo zero, descontado de B ; e $t_{1/2}$ é a meia vida de pós-colheita, uma característica que pode ser utilizada para selecionar genótipos com maior capacidade de armazenamento.

Atualmente as cultivares de tomate disponíveis no mercado brasileiro, não dispõem mais de gene marcador de amadurecimento, como ocorria, por exemplo, com a cultivar Kada. Consequentemente, definir o estágio “breaker” de amadurecimento dificulta o uso do método conforme vem sendo empregado (Andrade-Junior et al,

2005). A equação 1, no entanto, pode ser utilizada somente com dados tomados após o início de amadurecimento. Com este método, o início do amadurecimento é estimado pelo momento em que os frutos começam a perder firmeza. Em consequência, as medidas para estimar $t_{1/2}$ com a equação 1 são apenas aquelas que efetivamente foram feitas após o início do amadurecimento. Os dados obtidos antes disto são uma estimativa física da vida pré-climatérica dos frutos colhidos, o que pode ser confirmado mediante leituras da concentração do etileno na atmosfera interna. O parâmetro dias de vida pré-climatérica assim estimado ainda não foi utilizado em programas de melhoramento vegetal.

10 A técnica de aplanção tem sido utilizada para determinar a perda de firmeza durante o amadurecimento de goiaba e manga. Em hortaliças, como a berinjela e a beterraba (*Scientia Agricola*, v.56, p.1045-1050, 1999) e a cenoura (*Bragantia*, v.59, p.7-10, 2000; *Horticultura Brasileira*, v.21, p.597-600, 2003), o método de aplanção tem sido usado para determinar a perda de firmeza causada pela transpiração e a consequente desidratação do órgão. Medidas de turgescência de frutas e de hortaliças pela técnica de aplanção também têm sido úteis em logística, para determinar a altura máxima de embalagens e de pilhas de frutas e hortaliças armazenadas a granel (*Horticultura Brasileira*, v.21, p.704-707, 2003). Apesar das variadas aplicações do método, ainda não há instrumentos comerciais para fazer estas medições de turgescência.

20 Para a determinação de estresse hídrico em plantas existem outros tipos de técnicas que envolvem a compressão de tecidos da planta. Shayo-Ngowi & Campbell (*Agronomy Journal*, v.72, p.567-568, 1980), por exemplo, desenvolveram uma "prensa hidráulica" para estimar a tensão com que a água é retida nas paredes celulares e nos vasos do xilema de folhas e de tecidos segmentados. Para este tipo de medição, segmentos, tipicamente com área de 25 mm² e com espessura de até 3 mm, são comprimidos sob a placa de vidro transparente até a seiva começar a escoar pelos feixes vasculares. Segundo Eldrege & Shock (*American Potato Journal*, v.67, p.307-312, 1990), o método da "prensa hidráulica" apresentou elevada correlação com a tensão da água medida com a câmara de pressão Scholander (Scholander et al, *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, v. 52, p. 112-119, 1964) em folhas de batata. Este autor, no entanto, esclarece sobre a falta de base teórica para o emprego da "prensa

hidráulica", deficiência que foi parcialmente superada com os desenvolvimentos apresentados nos trabalhos de Calbo et al. (Annals of Botany, v.76, p.365-370, 1995) e Calbo & Nery (Brazilian Archives of Biology and Technology, v.44, p.41-48, 2001).

Para medição da pressão turgescência em folhas com espessura entre 0,05 *mm* e 2 *mm* foi desenvolvido em 2007 um sistema denominado Wiltmeter que usa o bloqueio de um fluxo de ar insuflado, com pressão da ordem de 5 *kPa*, sobre uma placa porosa e rígida. O sistema baseia-se no critério de aplanção da folha para estimar a pressão turgescência celular neste órgão (PI0705830-6). A pressão lida é aquela aplicada, para empurrar a folha contra a placa de aplanção com elemento poroso, com o auxílio de uma membrana flexível, que é inflada por água aplicada com um êmbolo. O Wiltmeter, consequentemente, não é adequado para a medição de pressão de turgescência celular em órgãos volumosos como frutos, nervuras, raízes e caules. O erro com que a pressão aplicada pela membrana é transferida através da folha até a placa de aplanção, onde o ar flui entre a folha e placa, aumenta com a espessura da folha, ou da fatia, no caso de órgãos fatiados, de modo que a leitura deve ser feita, preferencialmente, em amostras com espessura inferior a 2 *mm*. O sistema da PI0705830-6, por aplicar compressão de um lado com membrana inflável e ler a permeação de ar entre a placa e a folha do outro, não é adequado para a leitura de firmeza de órgãos volumosos aproximadamente cilíndricos ou elipsoidais, nem para aplicações relacionadas à automação do manejo da água de irrigação.

Também para folhas, Zimmermann et al. (J. Expt. Bot. v. 59, p.3157–3167, 2008) desenvolveram uma braçadeira com transdutor de pressão inserido sob uma camada de silicone para medir a pressão de turgescência. Neste instrumento, um sinal de pressão elétrico é gerado a partir das variações de volume e de pressão de turgescência da folha. Para a medição, a folha é apertada entre duas placas planares. A primeira placa é rígida e a segunda é recoberta com borracha de silicone e contém internamente o transdutor de pressão, cujo sinal é sempre uma fração da pressão aplicada na folha. De acordo com os autores, este instrumento possibilita aquisição contínua de dados de pressão de turgescência de folhas com diferentes espessuras. No sistema de Zimmermann et al., a pressão da folha é calculada por uma equação não linear, cuja definição dos parâmetros envolve aproximações. O sensor, adicionalmente,

apresentou atraso de resposta de até 4 horas em comparação com as leituras de pressão de turgescência celular feitas com a sonda de pressão celular pelos próprios autores.

Por enquanto, medições de pressão de turgescência não têm sido utilizadas para manejo de irrigação, exceto de maneira indireta, como por meio de leituras da variação do diâmetro de caules e de frutos com instrumentos análogos ao dendrômetro de Alvim (Alvim, Turrialba, v. 25, p. 445-447, 1975), porém dotados de conexão elétrica. Nos dendrômetros, a pressão de turgescência e o crescimento são duas variáveis se somam para determinar o diâmetro do caule. Assim, por não separar o efeito da pressão de turgescência celular, o dendrômetro não possibilita decisões diretas referentes ao momento correto de irrigar. Instrumentos que possam medir pressão de turgescência de maneira contínua e sem interações com o crescimento ainda não estão disponíveis para uso em manejo da água de irrigação. Adicionalmente, não há nenhum sistema disponível para automação de sistemas de irrigação que seja fundamentado exclusivamente na leitura de instrumentos dendrométricos.

Sobre sistemas de gotejamento e gotejadores é importante destacar que não há descrição de gotejadores que sejam diretamente acionados pela redução da pressão de turgescência celular de caules e outros órgãos vegetais. Os sistemas de gotejamento descritos a seguir foram desenvolvidos, principalmente a partir de 1970, para aplicar água próximo às plantas, com o intuito de economizar água, de evitar erosão e de reduzir a lixiviação de nutrientes minerais. Algumas das características determinantes da aplicabilidade dos sistemas de gotejamento foram mencionadas por Gillad em 1972 (GB 1392000), ao descrever gotejadores de plástico injetado com um labirinto para a água dissipar pressão sem a necessidade de orifícios tão finos e alongados como são utilizados em micro tubos. Este princípio foi aprimorado por Gorney em 1987 (US4655397) quando introduziu o gotejador de vórtex. Estas melhorias, no entanto, atenderam apenas parcialmente aos critérios de idealidade que segundo Gillad são: a) gotejamento uniforme e de baixa vazão; b) não entupimento dos gotejadores mesmo sem o uso de sofisticados sistemas de filtragem da água; c) unidades de gotejamento pequenas para facilitar o transporte e a montagem.

Hardison em 1975 (US3910500) descreve um sistema de irrigação por gotejamento para a aplicação de nutrientes minerais solúveis, fertirrigação. Neste sistema, com pelo menos dois filtros de areia, a irrigação podia continuar durante a

limpeza de um destes filtros de areia, por retro lavagem. O uso destes sistemas de gotejamento com a opção de aplicar água e fertilizantes trouxe possibilidades agrícolas valiosas, porém aumentou os problemas dos entupimentos dos gotejadores. Para resolver este problema, têm ganhado importância os gotejadores com componentes flexíveis. Um tipo primitivo destes gotejadores é o descrito por Mullett em 1977 (US 4037791) que utilizou um micro tubo colapsável de pequeno diâmetro atravessado por um fio de cobre para o escoamento da água. Nesse sistema, os gotejadores são colocados por dentro de uma mangueira cujo aumento da pressão comprime o micro tubo, proporcionalmente, porque a pressão no interior da mangueira é maior que a pressão atmosférica, nas saídas dos micros tubos colapsáveis. Assim, no micro tubo apertado, a vazão é mantida enquanto a pressão de trabalho varia. O fio de cobre inserido, neste sistema, inibe o crescimento de raízes ou algas, e reduz entupimento. Dentre os gotejadores menos susceptíveis a entupimentos estão aqueles com mecanismo anti-sifonamento, como o desenvolvido por Ruskin em 2006 (US 2006255186), que também contém uma membrana flexível para vedar a saída de água, quando é fechado o fluxo de água para irrigação. Deste modo evita-se que a tensão da água desenvolvida em algumas partes da mangueira cause a sucção de partículas de solo pelo gotejador, o que causa entupimentos. Estes sistemas com componentes flexíveis ou colapsáveis, no entanto, não foram, até o momento, utilizados para fazer controle da vazão de água de gotejadores de acordo com as variações da pressão de turgescência celular.

A presente invenção trata-se de um sistema para o aproveitamento da forma dinâmica e elástica com que o volume e a pressão de turgescência celular de plantas variam com o estado de hidratação para a construção de instrumentos de leitura da pressão de turgescência celular em órgãos volumosos como frutos e caules e de gotejadores que de forma automática supram a demanda hídrica de culturas irrigadas. A pressão de turgescência e as variações elásticas do volume dos tecidos causados pelo estado de hidratação da planta são utilizadas para pressionar, deformar e acionar o dispositivo de medir pressão e de controlar a vazão.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

Para funcionar como gotejador automático o sistema desta invenção aproveita a elasticidade e a pressão dos tecidos vegetais utilizando, como se pode observar nas Figuras 1 e 2, uma placa de amassamento (1), recoberta por uma membrana flexível (3),

que contém uma camada (2) de fluido, que ao ser comprimida obstrui a vazão do mesmo fluido, tipicamente água ou ar. O gotejamento da água de irrigação tem início quando a pressão ajustada da água na tubulação, por meio de um regulador de pressão (10), torna-se maior que a pressão dos tecidos da planta, ou seja, quando a planta

5 começaria a ter dificuldade para absorver água do solo ou do substrato em quantidade suficiente para manter a pressão de turgescência celular. Sistema similar pode ser utilizado também para a construção de instrumentos simples para medição da pressão de turgescência celular de órgãos, de plantas, como se pode observar na Figura 2, nos quais a pressão é aplicada com auxílio de um êmbolo (11) e é lida com um transdutor de

10 pressão (12). O amassamento provocado na camada (2) de fluido pela compressão do órgão contra a membrana (3) impede a passagem do fluido até que a pressão aplicada supere a pressão de turgescência celular e cause escoamento, situação em que a leitura da pressão de turgescência é tomada. A largura da camada (2) de fluido pode ser ajustada para atender aplicações sobre órgãos e outras estruturas irregulares, mesmo que

15 diminutas. Para a aquisição contínua de dados a camada (2) de fluido, pode ser ligada de um lado a um transdutor de pressão (12) e de outro fechado com uma tampa (Figura 3 - 13). A área da camada (2) de fluido de amassamento, mesmo neste caso, deve ser alongada para facilitar a acomodação sobre órgãos irregulares. Em pós-colheita, o sistema pode ser preparado para uso portátil ou então fixado em pedestal, no qual um

20 dispositivo de compressão auxilia na maior estabilidade da leitura.

BREVE DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

- Figura 1:** Gotejador com vazão de água controlada automaticamente pela pressão em tecidos elásticos da planta e que libera água quando a pressão no tecido vegetal torna-se menor do que a pressão de água ajustada em regulador de pressão.
- 25 **Figura 2:** Sistema para medição da pressão de turgescência celular similar ao sistema da Figura 1.
- Figura 3:** Sistema fechado para medir a pressão de turgescência de caules dendro-turgômetros.
- Figura 4:** Sistema portátil para medir pressão de turgescência.
- 30 **Figura 5:** Sistema com haste móvel que possibilita a leitura mais segura da pressão de turgescência celular quando o órgão é pressionado sobre toda a face coplanar do cilindro móvel.

Figura 6: Sistema com membrana inflável para aferição dos instrumentos desta invenção e outras aplicações de medição não destrutiva da pressão de turgescência celular.

Figura 7: Após um período de manutenção de firmeza dos frutos de tomate em uma fase de pré-amadurecimento (círculos vazios) ocorre um decaimento exponencial da firmeza (círculos cheios), o que possibilita o ajuste de uma constante de tempo denominada meia vida de pós-colheita dos mesmos. Os dados possibilitam determinar dias de armazenamento pré-amadurecimento (t_{pre}), meia vida pós-colheita (A) e a pressão de turgescência basal B .

10 DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Os sistemas de controle de gotejamento, ilustrado na Figura 1, e de medição de pressão de turgescência, ilustrado na Figura 2, desta invenção aproveitam a elasticidade volumétrica dos tecidos vegetais, isto é, o fato de que o volume dos órgãos aumenta com o aumento da pressão de turgescência celular e da disponibilidade dinâmica da água nos tecidos.

Na Figura 1, uma placa (1) de amassamento serve para que a força de aperto aplicada por uma mola (5), apoiada em uma braçadeira (6), cause a aplicação da pressão do tecido vegetal sobre uma membrana (3) que reveste a placa (1). Deste modo, a camada (2) de fluido, de pequena largura, mantida sob membrana (3) flexível, é comprimida e amassada pelo órgão (4) vegetal, constituído de tecidos parenquimatosos, isto é, composto de células não esclerificadas e macias. Na Figura 1 a área pressurizada da membrana (3) depende da força aplicada pela mola (5) e da pressão do órgão, que no máximo é igual à própria pressão de turgescência celular, quando as células possuem paredes finas. Enquanto a pressão do órgão (4) é maior do que a pressão com que a água é forçada, através do tubo de entrada (8), não há gotejamento (7). A passagem da água através do tubo de saída (9), não ocorre neste caso porque a camada (2) de fluido esta completamente amassada. O material de constituição desses tubos pode ser de capilar de cobre, aço, vidro, ou qualquer material rígido.

Conforme a disponibilidade de água no solo diminui e a transpiração causa diminuição da pressão de turgescência celular, a pressão ajustada da água, no regulador de pressão (10), pode superar a pressão da planta sobre a membrana e o gotejamento da água é iniciado. O regulador de pressão referido pode ser os amplamente disponíveis

comercialmente, para controle de pressão de gases e líquidos, sendo os de estágio simples para aplicações sem muita precisão, e os de estágio duplo para aplicações com maior precisão, sendo os dois tipos aplicáveis à invenção. Neste caso, a energia de funcionamento do gotejador é fornecida pela própria pressão da água, ajustada no regulador de pressão.

A camada (2) com fluido, preferivelmente alongada e estreita, de amassamento, do sistema para medição da pressão de turgescência celular possibilita a passagem de fluido sempre que a pressão aplicada é maior do que a pressão de amassamento exercida pelo órgão (4). Esta dominância do comprimento em função da largura é importante pelas seguintes razões: a) as variações volumétricas do órgão envolvidas na medição devem ser diminutas, para que possibilite controle rápido da vazão de água, demandando apenas movimentações imperceptíveis de água no interior do órgão vegetal; b) impõem um limite máximo à vazão; e c) facilita a miniaturização do gotejador para que possa ser usado, até mesmo no caule de pequenas plantas ornamentais e hortaliças.

A camada (2) de amassamento, em tese, pode ser reduzida a um simples orifício, a entrada (4) sobre o qual se apoia a membrana (3). Sobre esta membrana a pressão do órgão aplinado deixa o fluido escapar quando a pressão regulada da água supera a pressão de turgescência celular do órgão. Outra simplificação é converter o tubo de saída (9) em simples saída aberta sob a membrana. Desta forma, o fluido passa a escapar livremente. Esta simplificação é útil em plantas hidrófitas que suportam bem contato direto e contínuo com a água livre.

Na Figura 2 observa-se o sistema operado com auxílio de um êmbolo (11), ou seringa, no caso ilustrado de aplicação manual. O órgão (4) no exemplo é apertado contra a placa (1) transparente em uma estrutura estacionária simples de fixação, contendo aperto por mola (5), que é equivalente ao sistema de braçadeira ilustrado na Figura 1. Para a leitura aumenta-se a pressão aplicada na seringa até iniciar a passagem de água ou gotejamento, instrumento da Figura 2. Esta menor pressão que causa a passagem de fluido é a medição da pressão de turgescência do órgão vegetal, leitura feita no transdutor de pressão (manômetro).

O comprimento e principalmente a largura da camada (2) com fluido, de amassamento, do sistema de gotejamento automático ilustrado na Figura 1 e do sistema

de medição da turgescência de frutas e hortaliças ilustradas na Figura 2, podem ser miniaturizados, podendo facilmente ser diminuídas a uma largura de 0.10 milímetros, largura que é da ordem de magnitude do comprimento de uma célula parenquimatosa comum. Miniaturizações maiores são conceitualmente possíveis.

5 A placa de amassamento (1) pode ser produzida de plástico, o qual pode ser de PVC rígido, acrílico transparente ou poliacetal. Suas dimensões podem ser variáveis, dependendo das dimensões da amostra. Uma possível recomendação de dimensão máxima da placa, de formato retangular, seria de no máximo 4-5 cm de altura, por 1,5 cm de largura, pois acima desta dimensão, há necessidade de uma mola com constante
10 K elevada, o que resultaria no uso de uma mola dura. Em termos de dimensões mínimas, a placa de 1 cm de altura por 0,5 cm de largura foi testada, mas conceitualmente, essa dimensão pode ser diminuída se houver interesse. Esta placa pode ser fixada ao sistema de mola (5) prendendo-a por encaixe (Figura 1) ou por um pino (Figura 2). A membrana (3) pode ser produzida, por exemplo, pela deposição de
15 silicone de cura neutra sobre a placa (1), e pode ter entre 0,5 e 5 mm. A camada (2) de fluido, para amassamento, pode ser formada com auxílio de uma fita de náilon ou de polietileno, sobre o qual o silicone de cura acética não cola, e que, portanto, pode ser puxada e removida logo que a membrana estiver curada. A constituição, assim como a espessura da membrana independe da aplicação em caules ou frutas e hortaliças. A
20 camada (2) de fluido para compressão assim formada tem largura e espessura iguais à da fita que é utilizada como molde de fabricação.

Para a medição de frutas e hortaliças inteiras a largura da camada (2) pode ser entre 0,1 e 4,0 mm. Para aplicações como sistemas de gotejamento, ilustrado na Figura 1, a largura da camada (2) de amassamento deve estar mais próxima ao limite inferior
25 (0,10 mm), para que possa limitar a vazão gotejamento, conforme a aplicação em termos de planta, solo e clima. Tipicamente a largura e o comprimento da camada (2) de amassamento devem ser calculados de modo que a vazão da água seja menor que 4 litros por hora, sob uma diferença de pressão ajustada de água de 30 kPa.

A forma alongada da camada (2) e o fato de que o órgão precisar amassar apenas
30 uma parte desta camada sensível ao longo do comprimento facilita o uso dos sistemas de controle de gotejamento da Figura 1 e de medição da pressão de turgescência de frutos com o similar de escoamento de fluido da Figura 2. Além de facilitar o uso,

possibilita medidas sobre órgãos pequenos, como caules de hortaliças e plantas ornamentais, e sobre a superfície de frutos carnosos irregulares, como certos tipos de pepino ou de raízes de cenoura.

Sistema fechado

5 O sistema ilustrado na Figura 3 para medir a pressão de turgescência celular, tecnicamente pode ser denominado dendro-turgômetro, visto que é uma aplicação para uso em caules. Nesta aplicação, a placa (1) comprime a membrana (3) e, por conseguinte a camada (2) de fluido, que é amassada pela pressão do órgão apertado com o sistema de braçadeira (6), com mola (5). Diferentemente do que foi descrito nas 10 Figuras 1 e 2 na Figura 3 o sistema é fechado com uma tampa (13) no lado do tubo de saída (9), e conectado a um transdutor de pressão (12), que pode ser analógico (o observador anotará as medidas manualmente) ou eletrônicos (haverá necessidade de energia elétrica ou baterias), no lado do tubo de entrada (8). O fluido contido neste sistema preferencialmente é um óleo mineral que tolere a exposição à luz ultravioleta. A 15 pressão do órgão (4) causa apenas amassamento parcial na camada (2), que possibilita a leitura contínua da pressão de turgescência. Os dados de pressão de turgescência obtidos com o sistema fechado da Figura 3 podem ser utilizados para estudos de ecofisiologia e para aplicações de manejo de irrigação. O dendro-turgômetro tem sobre os dendrômetros comuns o diferencial de medir separadamente a pressão de turgescência. 20 Deste modo, é ideal para manejo de irrigação, pois não requer a separação dos efeitos da pressão de turgescência e do crescimento como ocorre nos dendrômetros comuns. É, portanto, um sistema que pode ser utilizado para manejo de irrigação mesmo em plantas em fase de ativo crescimento.

O sistema da Figura 3, evidentemente, pode ser montado em suporte estacionário 25 igual àquela ilustrada na Figura 2 para aplicações de pós-colheita. Alternativamente, o sistema da Figura 3 pode ser ligeiramente modificado para a construção de um instrumento portátil, ilustrado na Figura 4, no qual a força para leitura da pressão dos frutos é aplicada manualmente segurando-se o cabo (15), que substitui o sistema de braçadeira (6) e mola (5), para medir pressão de turgescência com auxílio de um 30 transdutor de pressão (12) e um dispositivo de leitura (14). Neste caso, também o tubo de saída (9) é fechado com a tampa (13) e o fluido fechado no sistema entre a membrana e os tubos de entrada (8) e tubo de saída (9). Entre os tubos de entrada de

fluido testados. foram empregados tubos de 0,1 mm de diâmetro interno (para aplicações em caules pequenos ou pequeno grupo de células). a 1-2 mm de diâmetro interno no máximo (para caules maiores ou frutas e hortaliças).

Em pós-colheita os sistemas portáteis são práticos e possibilitam mobilidade, porém resultados melhores são obtidos em sistema estacionários, nos quais a força de aperto é proporcionada por sistemas com mola (5), como ilustrado no suporte da Figura (2), que evidentemente pode ser utilizado com um sistema de leitura com fluido fechado como o ilustrado no sistema portátil da Figura 4. O instrumento portátil, por outro lado, é útil em aplicações de campo e de varejo, visto que poderá se constituir em um novo método para que o consumidor saiba sobre a firmeza do produto sem manuseá-lo. A leitura com instrumento portátil higienizado certamente pode ser classificada como uma boa prática agrícola.

Além da estabilidade de leitura, menor nos instrumentos portáteis, como ilustrado na Figura 4, é importante também considerar que a pressão de turgescência celular pode variar com a posição sobre a superfície do órgão. Em frutos de tomate da cultivar 'Kada Gigante', por exemplo, o amadurecimento começa na ponta distal e o processo avança em direção a inserção do pedúnculo, o que é um padrão típico de coloração ao longo do comprimento dos frutos meio-maduros.

Nas medidas com os sensores com fluido em sistema fechado das Figuras 3 e 4 o posicionamento do órgão (4) é mais difícil e precisa ser efetuado de maneira cuidadosa, para que a camada (2) alongada de amassamento, sob a membrana (3) esteja toda pressionada pelo órgão. Por esta razão, o formato alongado da camada (2) de amassamento com fluido é importante para facilitar o posicionamento dos dendroturgômetros, ilustrado na Figura 3, e dos firmômetros para uso em pós-colheita, como o ilustrado na Figura 4 por facilitar o dito ajuste de posição sobre órgãos vegetais alongados ou irregulares.

O sistema de leitura da pressão na Figura 3 é automatizado, eletrônico. Usa-se fonte de energia elétrica, tal como uma bateria para fornecer energia ao transdutor comercial de pressão, que pode ser de tipos variados (ex. transdutor piezoelétrico ou extensômetro resistivo do tipo Strain Gauge).

Sistema sem fluido

Na Figura 5 ilustra-se um sistema sem fluido para o aproveitamento da elasticidade hídrica na medição de pressão de turgescência celular. O sistema contém uma haste móvel (16), preferencialmente com secção transversal alongada, é apoiada no transdutor de força (17), de um lado, e do outro, possui face plana mantida em nível praticamente igual ao do plano externo da placa (1), sob a membrana (3) flexível. A haste não só transfere a pressão do órgão (4) para o transdutor de força (17), como também impede a entrada de impurezas, que poderiam travar a movimentação e a leitura de força, mediada pela haste (16).

Como nos casos dos sistemas das Figuras 3 e 4 toda a secção transversal da haste (16) sob a membrana precisa ser comprimida pela pressão do órgão vegetal. Em tese, a haste pode ser substituída por outros sistemas de medição de força que possam medir a pressão de turgescência celular, enquanto sofrem deformações microscópicas, como ocorre em diversos sistemas de células de carga, como por exemplo, aqueles baseados na tecnologia piezo resistiva.

Em tese, firmômetros preparados com haste da Figura 5 são mais sensíveis à orientação espacial e às vibrações do que os sistemas com fluido. Isto, no entanto, pode ser minorado, caso a haste seja removida do sistema e a leitura seja feita diretamente sobre um sensor de força ou de pressão, de estado sólido.

Utilizando-se transdutores de força (17) tipo célula de carga como a ilustrada na Figura 5 a pressão do órgão (4) é obtida dividindo-se a força medida, descontado o peso da haste, pela área da secção transversal da haste.

Considerações fisiológicas

A pressão de turgescência celular determina a aparência de frescor dos órgãos destacados e pode ser diminuída por desidratação, amadurecimento e senescência. A espessura da parede celular, e em menor proporção os volumes gasosos intercelulares, fazem com que as medidas dos instrumentos desta invenção sejam ligeiramente menores do que a pressão de turgescência celular. Sob o ponto de vista de fisiologia vegetal, um aspecto útil é que os volumes intercelulares na região amassada são diminuídos, mas não são completamente anulados, o que possibilita a medição da pressão de turgescência por longos períodos de tempo sem causar danos de hipoxia aos tecidos estudados, por exemplo, como nas aplicações de gotejadores da Figura 1 ou em dendro-turgômetros da Figura 3.

A força de compressão aplicada para a medição com os instrumentos desta invenção deve ser suficiente para amassar toda a camada (2) sob a membrana nas aplicações com transdutor de pressão das Figuras 3 e 4 e sob toda a face transversal da haste (16) do sistema ilustrado na Figura 5. Assim, a força para uma área de $0,10 \text{ cm}^2$ em órgãos com pressão de turgescência limite de 8 kgf/cm^2 é calculada multiplicando a pressão de turgescência limite pela dita área. Neste caso, obtém-se que a força necessária para amassar uma área pelo menos duas vezes maior que $0,10 \text{ cm}^2$ é $1,6 \text{ kgf}$.

A montagem da Figura 3 é ideal para acompanhar a pressão de turgescência de plantas no campo, para estudos de ecofisiologia e para a aferição biológica de métodos de manejo de irrigação baseados em variáveis do solo e da atmosfera. Adicionalmente, o sistema ora proposto pode também ser utilizado para aplicar o conceito de déficit de irrigação, que é uma tecnologia em desenvolvimento e para a qual ainda há carência de sensores de planta adequados no mercado. O sistema proposto tende a funcionar melhor em plantas monocotiledôneas e de plantas herbáceas que tendem a possuir tecido dermal macio, sendo adequadas à aplicação do sistema desta patente.

Nas Figuras 3, 4 e 5, a camada (2) possui largura diminuta para operação de gotejamento em plantas herbáceas com diâmetro superior a 4 milímetros e também para medições de laboratório, por exemplo, em raízes e nervuras. Para as aplicações em gotejamento, da Figura 1, convém que a camada (2) de amassamento tenha área diminuta, menor que $0,025 \text{ mm}^2$ e comprimento, por exemplo, entre 4 a 15 mm . Desta forma pode-se aplicar água com baixa vazão, preferivelmente a menos de 4 Lh^{-1} . Caso a área amassada seja de 1 mm por 4 mm e se no órgão a ser medido a pressão de turgescência se eleva até $1,0 \text{ MPa}$, então a mola (5) deve exercer uma força entre 0,4 e 0,8 kgf . Nos sistemas de gotejamento da Figura 1 o amassamento não precisa tomar todo o comprimento da camada (2), no entanto, o amassamento do sensor pelo órgão deve ocupar várias vezes a largura da camada (2), para que obstrua efetivamente o fluxo de água, sempre que a pressão de turgescência se mantiver maior que a pressão da água ajustada no regulador de pressão (10).

Uma questão também relevante nesta invenção é a estimativa do volume do tecido do órgão que é comprimido. Este volume depende da geometria de cada órgão, contudo, pode-se obter uma ideia aproximada imaginando-se o amassamento de uma calota esférica, na qual o raio do órgão é o raio desta calota.

O volume de uma calota esférica é representado por:

$$V = \pi h (3a^2 + h^2)/6 = \pi h^2 (3R - h)/3 \quad \text{eq. 2}$$

Onde V é o volume, h é a altura da calota esférica amassada a é o raio da área amassada e R é o raio do órgão. Da equação 2 tira-se que:

$$h^2 - 2Rh + a^2 = 0 \quad \text{eq. 3}$$

Se a^2 no caso considerado é igual a um quarto do produto de 0,1 cm por 0,4 cm então se R for igual a 1 cm calcula-se que a altura da calota amassada h é 0,005 cm e que o volume da calota de tecido amassado V é de 79 nL. Esta deformação é de aproximadamente dois décimos de milésimo do volume do órgão, o que presumivelmente representa um estresse biológico diminuto e reversível, em vista de estresses de compressão milhares de vezes maiores que foram necessários, em estudos anteriores, para causarem efeitos fisiológicos detectáveis sobre o amadurecimento do tomate. Caso a área amassada pelo aperto da mola duplique, enquanto a planta perde turgescência até a irrigação ser disparada, então, o volume amassado da calota esférica que aumenta na proporção do quadrado da área amassada e que no caso considerado passaria de 79 nL para 316 nL, de acordo com as equações 2 e 3.

Com o tubo de saída (9) fechado por uma tampa (13), o fluido é pressurizado de acordo com a pressão de turgescência celular. Na Figura 3, assim como na configuração da Figura 1, além de possuir resistência mecânica suficiente, a espessura da membrana (3) deve ser, preferencialmente, da ordem da largura da camada (2) de amassamento e o material da membrana deve ter um módulo de elasticidade volumétrico de pelo menos 10 MPa. o que é atendido por diversos tipos de materiais flexíveis, como a borracha de silicone, por exemplo.

Para facilitar a leitura o sistema montado com transdutor de pressão, ilustrado nas Figuras 3 e 4, pode ter camada (2) de amassamento estreita com largura da ordem de 0,4 mm e comprimento da ordem de 4 mm. O volume total sob a área de amassamento (1), assim configurada, é de 160 nL. Para leitura de pressões de até 1 MPa em um transdutor de pressão conectado a esta área de amassamento o maior volume tolerável de um fluido com compressibilidade de $0,00078 \text{ MPa}^{-1}$ é calculado em 0,205 mL, na situação limite em que todo o volume de fluido sob a camada (2) de amassamento é comprimido no próprio transdutor de pressão. Assim, como o fluido adicionalmente possui expansibilidade térmica com magnitude da ordem de 0,00078

“ C^1 ”, neste sistema para maior segurança convém manter-se os volumes mortos no interior do transdutor (12) e nos tubos de entrada (8) e de saída (9) em menos de 0,05 mL.

Para a medição neste sistema, a pressão no órgão poderia se elevar até 1,0 MPa.

- 5 Assim, se o elipsóide de amassamento tiver o diâmetro menor igual a 2 mm e o diâmetro maior igual a 8 mm, então, a força da mola nas Figuras 1, 2 e 3 ou da mão que segura o cabo (15), necessária para comprimir esta área especificada da superfície do órgão sobre o sensor é de 1,25 kgf, na condição especificada.

Aferições e balizamento

- 10 As concreções do sistema desta invenção não requerem calibração, porém podem ser submetidas a diferentes aferições para a verificação do correto funcionamento. Aferições que podem, por exemplo, serem feitas através comparações com a sonda de pressão, com a técnica de aplanação ou, preferencialmente, comprimindo-se o sensor contra uma membrana elástica (16) de um aferidor ilustrado
- 15 na Figura 6, cuja pressão interna é ajustada pressionando-se um êmbolo (11) e lida em um transdutor de pressão (12). A pressão aplicada com o sistema de aferição da Figura 5 deve ser sempre muito próxima das leituras obtidas com os instrumentos ilustrados nas Figuras 1, 2, 3 e 4, que contra o aferidor sejam apertados. No uso do aferidor, deve-se
- 20 cuidar para nunca aplicar pressão antes de ter o instrumento sob aferição firmemente preso, para não se causar dano à membrana elástica (16), que é utilizada para a aplicação das pressões de aferição.

- Além da possibilidade de aferição, é interessante, para fins comparativos, ter-se uma noção da magnitude dos valores de pressão de turgescência em diversos órgãos. Assim, é comum serem obtidos valores ao redor de 6 kgf/cm² para cenoura, 5 kgf/cm²
- 25 para batata e cebola e valores inferiores a 2 kgf/cm² para folhosas. De uma maneira geral, a pressão de turgescência em ordem decrescente de órgãos recém-colhidos e bem hidratados é: de raízes tuberosas (5 a 10 kgf/cm²), tubérculos (4 a 7 kgf/cm²), frutos verdes (1,5 a 4 kgf/cm²), folhas (1 a 3 kgf/cm²) e de frutos maduros (0,2 a 1 kgf/cm²), respectivamente. Em todos os casos, valores de pressão de turgescência que se
- 30 aproximam de zero indicam de que o produto está desidratado ou então que o produto já está senescente e inadequado para consumo. Valores homeostáticos normais de pressão de turgescência são indicativos da qualidade e da aceitabilidade do produto. Estes

valores homeostático usualmente se encontram dentro de uma faixa que vai de um limiar inferior de aceitabilidade comercial, que requer determinação experimental, e que tipicamente é de magnitude superior a 40 kPa , até uma pressão de turgescência três, ou mais, vezes maior obtida no momento da colheita.

5 Aplicações em pós-colheita

Na Figura 7 ilustra-se a variação típica da pressão de turgescência, com a expressão matemática que a representa, após o início do amadurecimento do fruto (círculos cheios) do tomateiro, conforme leituras feitas sempre na mesma área sobre a superfície do fruto. Sob temperatura estável e umidade elevada ($>90\%$) esta curva serve para estimar a meia vida de pós-colheita. Os dados representados por círculos vazios nesta curva não são ajustados, porém, são úteis para definir o número de dias de armazenamento antes do amadurecimento do fruto, induzido por etileno, ter início.

Para a medida em órgãos planos ou fatias espessas com mais de 3 mm de espessura ou de nervuras, a placa (1) deve ser levemente convexa e camada (2) de amassamento ter largura menor que $0,4 \text{ mm}$, para que se possa deformar a estrutura apenas ao longo de uma faixa com espessura ao redor de 1 ou 2 mm , ou até menos.

Para aplicações a frutas e hortaliças no varejo, o sistema pode ser portátil montado sobre uma placa (1) plana com leitor (14) como ilustrado na Figura 4. Este instrumento portátil é apertado manualmente contra os órgãos comercializados. Uma tabela com valores de firmeza exposta dará ao comprador uma ideia comparativa da turgescência do produto. Medição com o firmômetro da Figura 4 é uma alternativa para desencorajar a apalpação de frutas e hortaliças, durante a compra, prática que não é usual na Europa e Estados Unidos, onde os padrões de higiene estão socialmente aplicados em melhor nível.

25 Situações não ideais

O sistema da Figura 3 é concebido para uso em fito-monitoramento, visto que possibilita a medição contínua da pressão de turgescência no caule, ao invés de simples medições de variação de diâmetro, feitas com um dendrômetro comum. Isto é uma alternativa importante, visto que a pressão de turgescência é uma variável fisiológica de interpretação simples e que possibilita definir valores limiares abaixo dos quais a irrigação deve ser aplicada a uma planta. Nestas é comum que os caules tenham apenas aproximadamente as propriedades preconizadas para a realização de medições válidas.

Nestes caules, no entanto, em algumas irregularidades geométricas causadas por pequenas esclerificações são superáveis, por exemplo, quando envolvem padrões suaves, como um rendilhamento. Em casos como este, pode-se usar um pré-tratamento da área com uma camada de cola de silicone de cura neutra, de espessura suficiente para
5 preencher as mencionadas irregularidades, para que deste modo o sensor possa ser adequadamente amassada pelo sistema de braçadeira (6) e mola (5).

REIVINDICAÇÕES

1. Dispositivo de medição de pressão e controle de vazão caracterizado por compreender uma placa de amassamento (1), dotada de uma cavidade onde se dispõe uma camada de fluido (2) envolvida por uma membrana de contato flexível (3), sendo que tal placa (1) é fixada por um sistema de mola de aperto (5) que é presa por um pino e apoiada em uma braçadeira (6) que envolve a amostra (4); ademais, o sistema apresenta um sistema de oferta de fluido sob pressão regulada (10) conectado a um tubo de entrada (8), que se intercomunica com a cavidade formadora da camada de fluido (2), bem como com o tubo de saída (9), que pode, opcionalmente, ser dotado de extremidade de gotejamento (7).
2. Dispositivo de medição de pressão e controle de vazão, de acordo com a reivindicação 1, caracterizado por apresentar um sistema de oferta de fluido sob pressão regulada (10) composto por um êmbolo de pressurização (11), conectado por tubulação a um manômetro (12), que por sua vez é conectado por um tubo de entrada (8) à camada de amassamento (2).
3. Dispositivo fechado de medição de pressão caracterizado por compreender uma placa de amassamento (1), dotada de uma cavidade que dispõe de uma camada de fluido (2) envolvida por uma membrana de contato flexível (3), sendo que tal placa (1) é fixada por um sistema de mola de aperto (5) que é presa por um pino e apoiada em uma braçadeira (6) de envolvimento da amostra (4); ademais, o sistema apresenta um transdutor de pressão (12) acoplado a um tubo de entrada (8), que se intercomunica com a cavidade formadora da camada de fluido (2), bem como com o tubo de saída (9), que apresenta em sua extremidade uma tampa (13).
4. Dispositivo de medição de pressão caracterizado por ser constituído por uma haste móvel (16) com uma face apoiada em um transdutor de força (17), e com uma face coplanar com a superfície externa da placa (1), sob uma membrana flexível de transferência (3) de pressão da amostra (4) para a haste e o transdutor de força (17).
5. Dispositivo de medição de pressão, de acordo com as reivindicações 3 e 4, caracterizado pelo transdutor de pressão ou de força (12) alocado sob a membrana (3) ser de estado sólido.

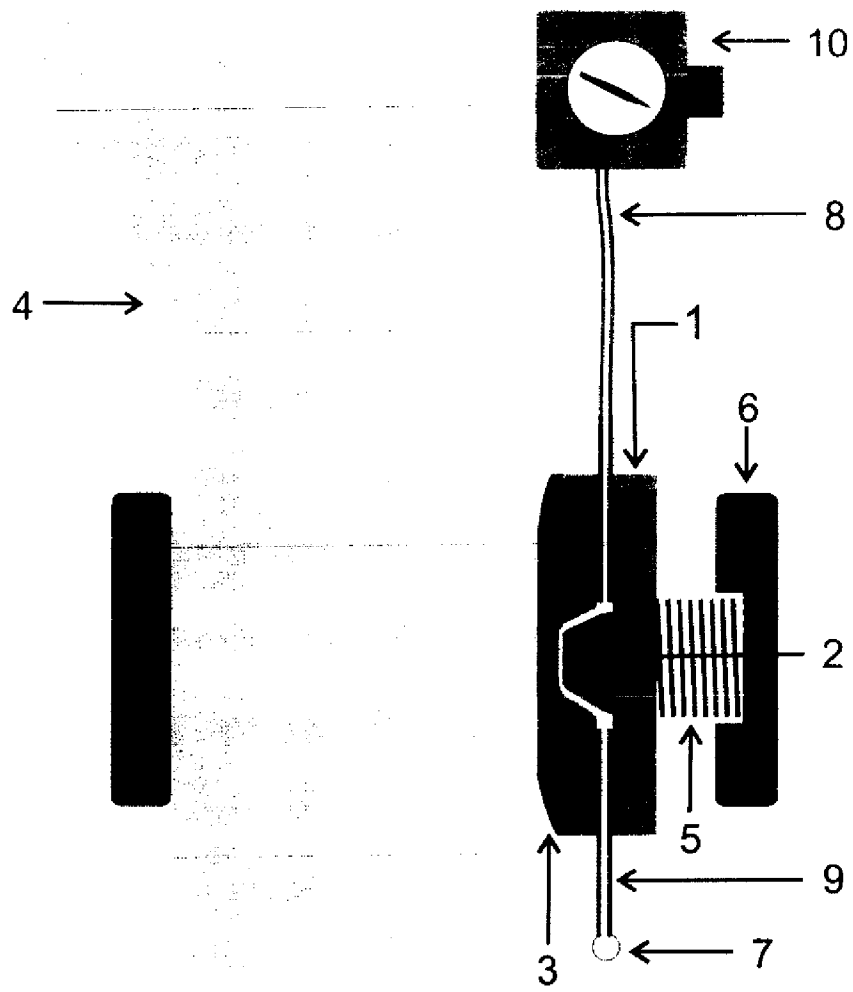


Fig. 1

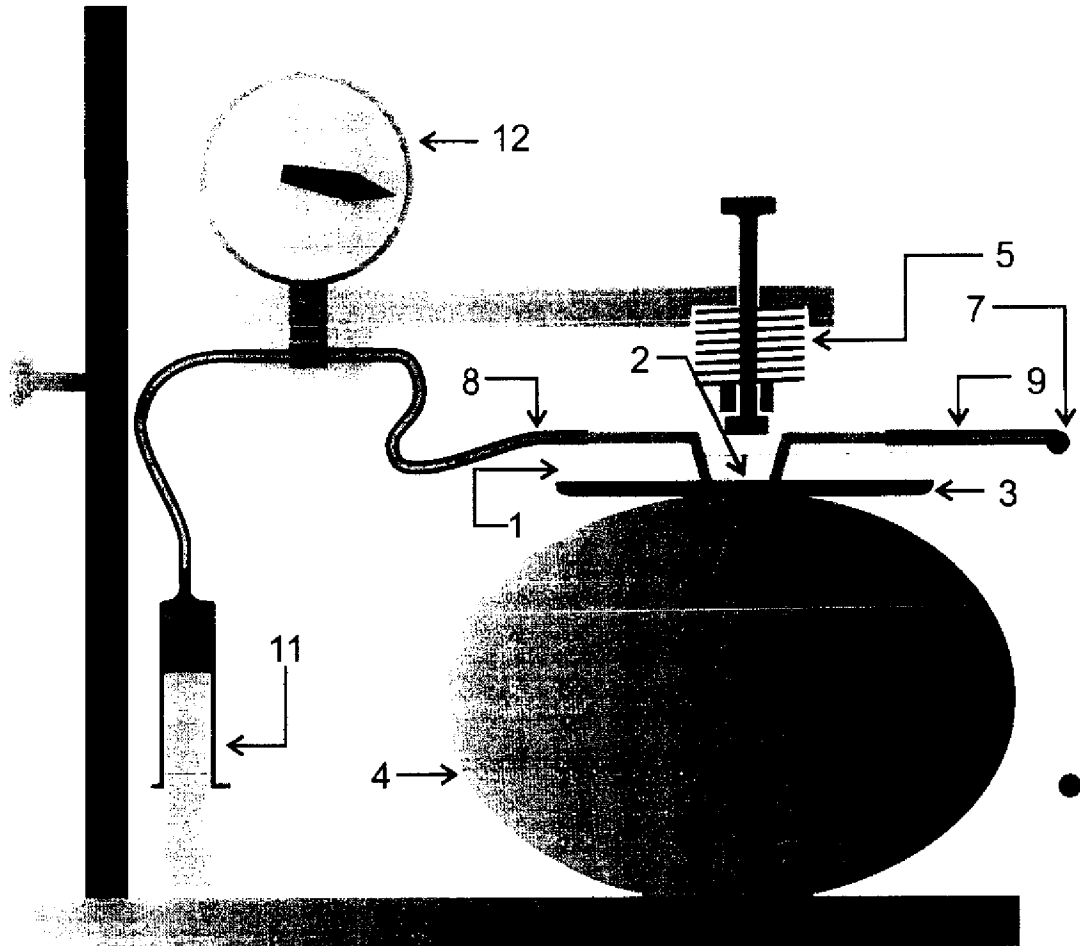


Fig. 2

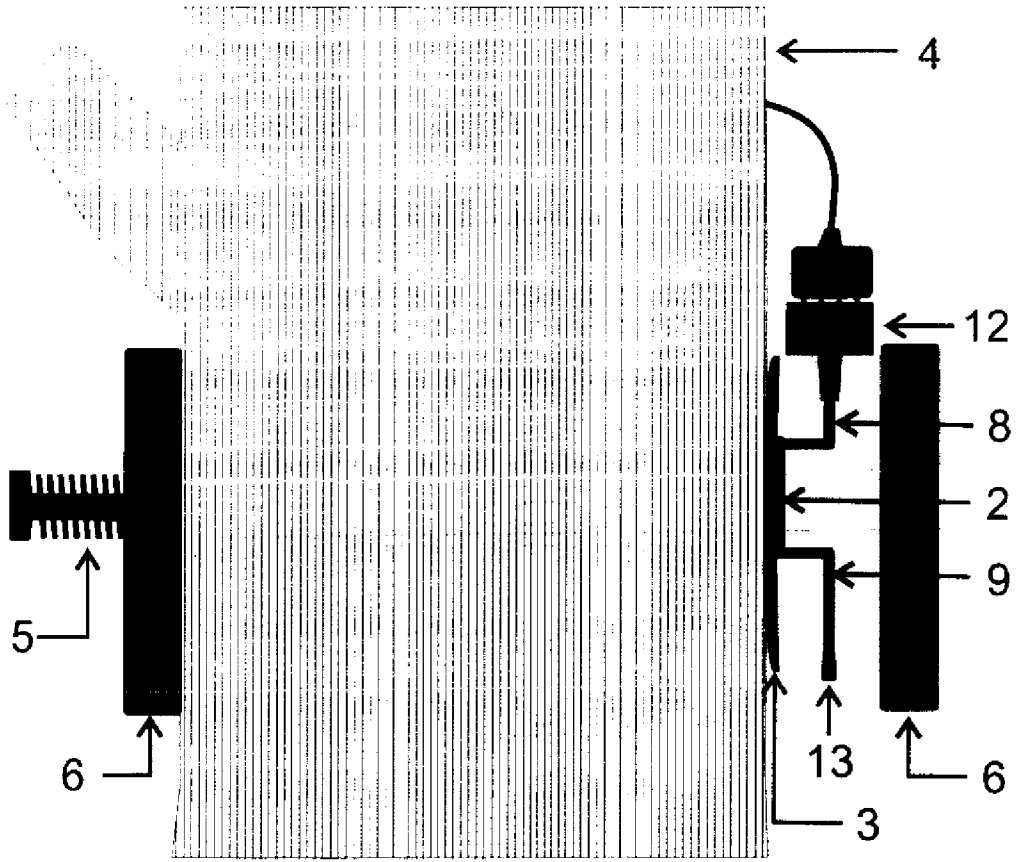


Fig. 3

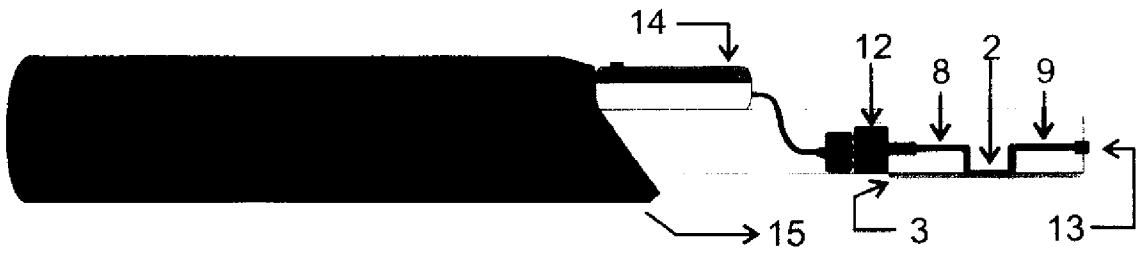


Fig. 4

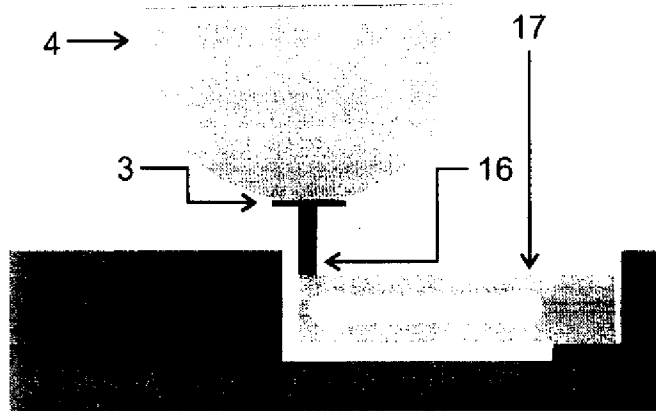


Fig. 5

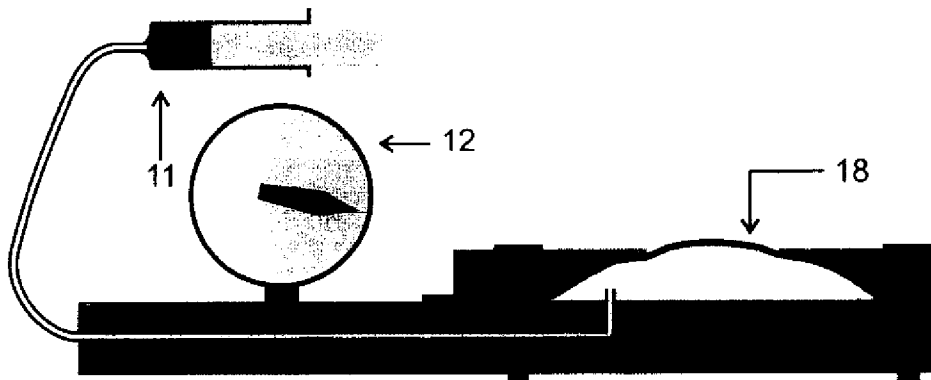


Fig. 6

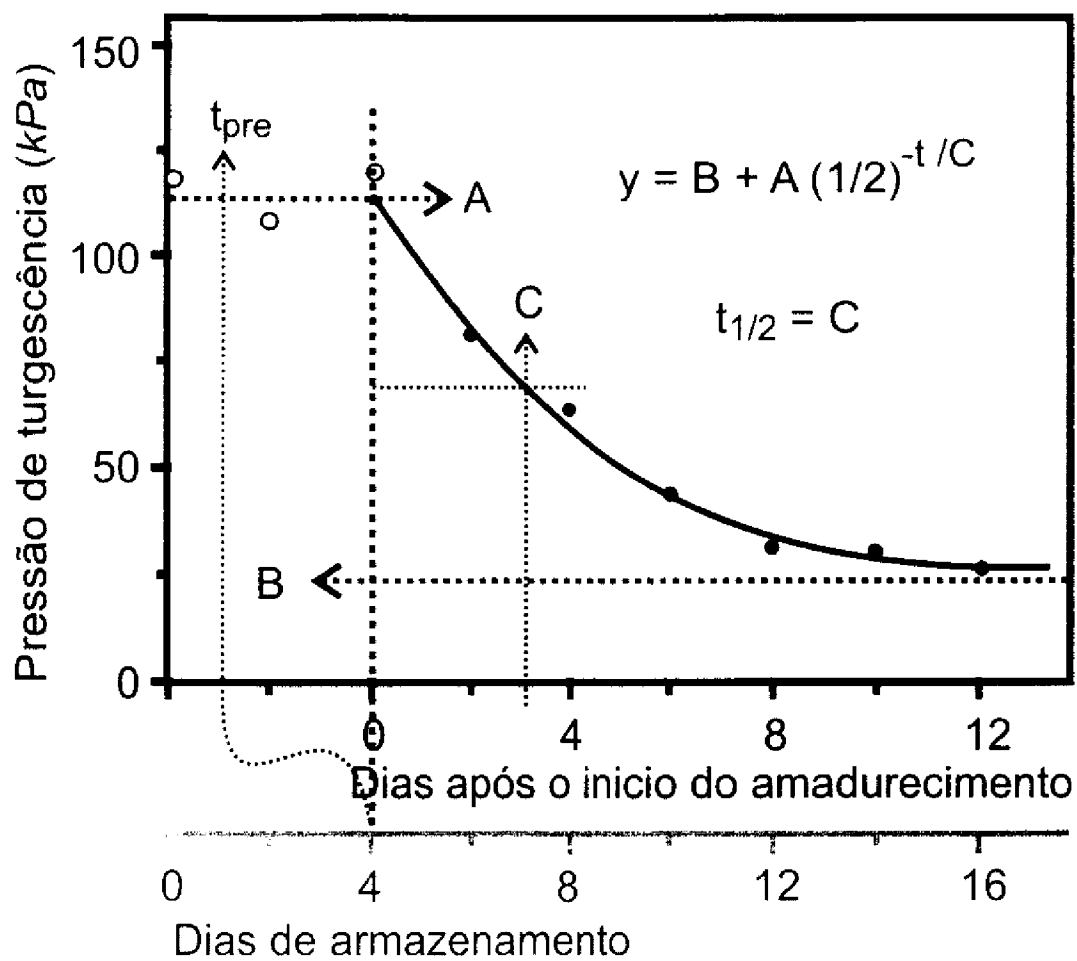


Fig. 7